

Ověření respirometru BI-2000 pro sledování biodegradace organických látek

Bc. Táňa Nemečková

Diplomová práce
2008



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí
akademický rok: 2007/2008

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Táňa NEMEČKOVÁ**
Studijní program: **N 2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**

Téma práce: **Ověření respirometru BI-2000 pro sledování biodegradace organických látek**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární rešerši na zadané téma. V práci se zaměřte především na:
 - instrumentální možnosti sledování biodegradace organických látek v heterogenní fázi
 - princip elektrochemického respirometru
 - validace/verifikace
2. Na základě literární studie:
 - navrhnete postupy validace/verifikace elektrochemického respirometru pro sledování biologické rozložitelnosti organických látek v heterogenní fázi
 - provedte vlastní verifikaci elektrochemického respirometru BI-2000
 - verifikaci provedte pro nejvýznamnější parametry (např. koncentrace substrátu a inokula) s využitím různých typů substrátu
3. Výsledky zpracujte podle zvyklostí písemnou formou s využitím programu STATISTICA a vypracujte metodický pokyn pro stanovení biologické rozložitelnosti nízkomolekulárních i vysokomolekulárních organických látek metodou spotřeby kyslíku v elektrochemickém respirometru.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- Meloun M., Militký J., Kompendium statistického zpracování dat, Academia (2. vydání), 2006, ISBN 80-200-1396-2
- stávající monografická a časopisecká literatura na ÚIOŽP
- literární databáze dostupné online na síti UTB
- další podle doporučení vedoucího DP

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Jaromír Hoffmann, CSc.**
Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

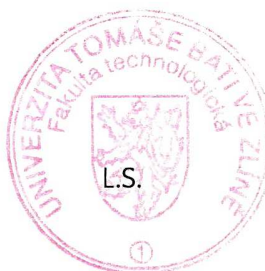
Datum zadání diplomové práce: **19. února 2008**

Termín odevzdání diplomové práce: **16. května 2008**

Ve Zlíně dne 19. února 2008



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. RNDr. Jan Růžička, Ph.D.
pověřený ředitel ústavu

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá nalezením a navrhnutím optimálních podmínek pro sledování biologické rozložitelnosti organických látek v respirometru BI-2000. Experimenty byly prováděny s modelovými látkami: benzoan sodný, glycerin, přírodní škrob Meritena 100, kaprolaktam a anilin. Hlavními hodnotícími kritérii byla biochemická spotřeba kyslíku a procento odstranění substrátu podle úbytku organického uhlíku. Jako významné faktory ovlivňující průběh biodegradace v respirometru BI-2000 se ukázaly především míchání reakční suspenze a okolní teplota.

Klíčová slova: biodegradace, respirometr, biochemická spotřeba kyslíku, substrát, aktivovaný kal

ABSTRACT

The major goal of this thesis was to find and design the optimal conditions for monitoring of the biodegradation of the organic substances in the respirometer BI-2000. The experiments were carried out with the following substances: sodium benzoate, glycerine, natural starch Meritena 100, caprolactam and aniline. The main evaluative criteria were the biochemical oxygen demand and percentage of substrate elimination according to the organic carbon decrease. The most important factors affecting the course of the biodegradation in respirometer BI-2000 have turned out to be the stirring of the reaction suspension and its surrounding temperature.

Keywords: biodegradation, respirometer, biochemical oxygen demand, substrate, activated sludge

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Jaromíru Hoffmannovi, CSc. a konzultantovi Ing. Markétě Julinové, Ph.D za odborné vedení a poskytnutí cenných rad, které mi pomohly vypracovat tuto práci. Dále patří mé poděkování celému kolektivu Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí za vytvoření výborných pracovních podmínek.

Prohlašuji, že jsem na celé diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Ve Zlíně dne 16. května 2008

.....

Táňa Nemečková

OBSAH

ÚVOD.....	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 INSTRUMENTÁLNÍ MOŽNOSTI SLEDOVÁNÍ BIODEGRADACE ORGANICKÝCH LÁTEK V HETEROGENNÍ FÁZI	10
1.1 ANALYZÁTORY ZALOŽENÉ NA MANOMETRICKÉM MĚŘENÍ	13
RESPIROMETR BIAL BOD 10	13
WARTBURGŮV RESPIROMETR.....	14
ARTHUR BENCH RESPIROMETR.....	15
OXITOP	16
ZAŘÍZENÍ PRO MĚŘENÍ VÝVOJE OXIDU UHLIČITÉHO A VÍCESLOŽKOVÝ SYSTEM PRO TESTOVÁNÍ BIODEGRADACE	17
SAPROMAT E	17
CES RESPIROMETR	19
1.2 ANALYZÁTORY ZALOŽENÉ NA PRINCIPU PŘÍMÉHO MĚŘENÍ PRODUKCE OXIDU UHLIČITÉHO ČI SPOTŘEBY KYSLÍKU	20
RESPIROMETR PRO STANOVENÍ BIOLOGICKÉ ROZLOŽITELNOSTI ZA AEROBNÍCH A ANAEROBNÍCH PODMÍNEK-SYSTEM MICRO-OXYMAX.....	20
RESPIROMETR PRO AKTIVOVANÝ KAL	21
ADIABATICKÝ DYNAMICKÝ RESPIROMETR FIRMY COSTECH INTERNATIONAL	22
SMÍŠENÝ RESPIROMETR PODLE A. KRIST GERNAEY	23
RESPIROMETR PODLE Z. YUAN.....	24
UZAVŘENÝ RESPIROMETR PODLE S. MARSILI-LIBELLI	25
1.3 TESTOVACÍ APARATURY POUŽÍVANÉ NA UIOŽP	26
2 ELEKTROCHEMICKÝ RESPIROMETR BI –2000	29
2.1 SOUČÁSTI RESPIROMETRU BI-2000	29
2.1.1 Reakční modul	29
2.1.2 Reakční nádoby a cely	29
2.2 PRINCIP MĚŘENÍ V RESPIROMETRU BI-2000	31
3 VALIDACE/VERIFIKACE	32
3.1 DRUHY VALIDACÍ	32
3.1.1 Interní (vnitřní) validace	32
3.1.2 Externí (vnější) validace	32
3.2 VALIDAČNÍ PARAMETRY	33
Selektivita metody.....	33
Mez detekce	33
Pracovní rozsah, linearita	33
Robustnost.....	34
Výtěžnost.....	34
Správnost a přesnost (opakovatelnost a reprodukovatelnost)	34
4 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	36
II PRAKTICKÁ ČÁST	37
5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	38

5.1	CHEMIKÁLIE A ROZTOKY	38
5.2	BIOLOGICKÝ MATERIÁL	39
5.3	MODELOVÉ LÁTKY	39
5.4	CHARAKTERISTIKA REÁLNÝCH VZORKŮ.....	39
5.5	HODNOCENÍ ÚPLNÉ AEROBNÍ BIOLOGICKÉ ROZLOŽITELNOSTI ORGANICKÝCH LÁTEK VE VODNÍM PROSTŘEDÍ.....	40
5.6	POUŽITÉ PŘÍSTROJE	41
5.7	PRACOVNÍ POSTUPY	41
5.7.1	Respirometr BI-2000 (Bioscience inc., USA).....	41
5.7.2	Respirometr MicroOxymax (Columbus inc., USA)	42
5.8	BĚŽNÉ LABORATORNÍ ANALÝZY A POSTUPY	42
6	VÝSLEDKOVÁ ČÁST	44
6.1	VÝSLEDKY TESTŮ S RESPIROMETREM BI-2000	46
6.2	VÝSLEDKY TESTŮ S RESPIROMETREM MICRO-OXYMAX	72
7	DISKUSNÍ ČÁST	74
7.1	REKALIBRACE MĚŘÍČÍHO ROZSAHU TLAKOVÝCH SENZORŮ	75
7.2	REAKČNÍ MODULY.....	77
7.3	NÁVRH VHODNÉ SUŠINY KALU	78
7.4	ODHAD MINIMÁLNÍ KONCENTRACE SUBSTRÁTU	79
7.5	VLIV MÍCHÁNÍ A TEPLoty NA PRŮBĚH BIOLOGICKÉHO ROZKLADU	80
7.6	BIOLOGICKÁ ROZLOŽITELNOST DUSÍKATÝCH SUBSTRÁTŮ A NITRIFIKACE.....	86
7.7	RESPIROMETR BI-2000 VS. RESPIROMETR MICRO-OXYMAX	86
7.8	METODICKÝ POKYN PRO SLEDOVÁNÍ BIODEGRADACE ORGANICKÝCH LÁTEK V RESPIROMETRU BI-2000	87
7.8.1	Předmět metodického pokynu [3]	87
7.8.2	Podstata zkoušky [3]	88
7.8.3	Zkušební podmínky [3].....	88
7.8.4	Chemikálie [3].....	88
7.8.5	Postup zkoušky [3].....	88
7.8.5.1	Příprava roztoků zkoušených látek.....	88
7.8.5.2	Příprava inokula.....	88
7.8.5.3	Zkouška.....	89
	ZÁVĚR	90
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	91
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	94
	SEZNAM OBRÁZKŮ	96
	SEZNAM TABULEK.....	100

ÚVOD

V posledních desetiletích se dramaticky změnil životní styl zejména v ekonomicky vyspělých zemích. Stupňující se chemizací neustále stoupá spotřeba chemických látek ve všech odvětvích našeho života. Proto jsou formulována legislativní opatření, která se týkají uvádění nových produktů na trh (např. čisticí a prací prostředky, plasty) a jejich vnášení do životního prostředí. Opatření by se měla týkat i chemických látek, které se používají již delší dobu, a jsou možnými producenty ekologických zátěží. Jednou z hlavních koncepcí by měla být prevence a snížení vlivů chemických látek na životní prostředí.

Se zvyšujícím se ekologickým uvědoměním se stále více dostávají do popředí biologické testy mikrobiální rozložitelnosti látek. Stanovení biodegradace i toxicity chemických látek je velice důležité z hlediska hodnocení jejich účinků na životní prostředí.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 INSTRUMENTÁLNÍ MOŽNOSTI SLEDOVÁNÍ BIODEGRADACE ORGANICKÝCH LÁTEK V HETEROGENNÍ FÁZI

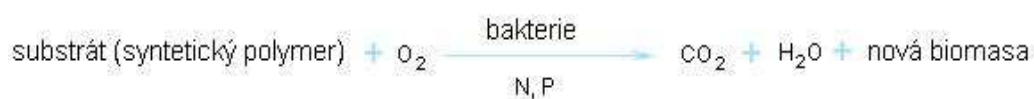
Tato kapitola se snaží poskytnout přehled o metodách, které se objevují v měřících technikách používaných pro stanovení biologické rozložitelnosti organických látek v heterogenním prostředí. Nevystihuje a ani nemůže pokrýt celou oblast instrumentálních a laboratorních technik využívaných pro stanovení biodegradace. Práce si neklade za cíl nahradit informační a propagační materiály vydávané jednotlivými výrobci a dodavateli. Snaží se spíše o systematické utřídění a vysvětlení fyzikálních a fyzikálně-chemických základů, na nichž jsou jednotlivé laboratorní aparatury a přístroje založeny.

Aby bylo možno při popisu jednotlivých metod a přístrojů postupovat alespoň trochu systematicky, je zapotřebí vybrat hlediska pro jejich rozdělení. Významným hlediskem pro klasifikaci respirometrů je princip, na němž je funkce dané laboratorní aparatury nebo přístroje založena.

Metodika zjišťování biologické rozložitelnosti organických látek je určována třemi základními faktory – typem organické látky (vodou rozpustné nebo nerozpustné látky, polymery, atd.), prostředím, ve kterém je daná organická látka testována (vodní aerobní nebo anaerobní prostředí, půdní prostředí a kompostování) a především třetím faktorem – typem mikroorganismů.

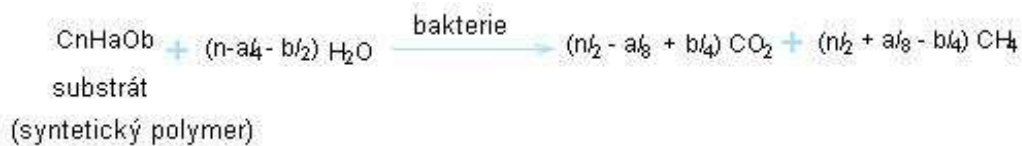
Biologickým rozkladem neboli biodegradací rozumíme odstraňování organických látek působením biologických činitelů (např. mikroorganismy). Biodegradace je založena na schopnosti těchto činitelů rozkládat širokou škálu organických látek. Aerobní mikroorganismy využívají organické látky (substrátu) disimilačně a asimilačně. Při disimilaci mikroorganismy získávají potřebnou energii oxidací organických látek na jednodušší produkty, v případě úplného biologického rozkladu na oxid uhličitý a vodu. Při asimilaci je část substrátu spotřebována na syntézu zásobních látek a tvorbu nové buněčné hmoty.

Průběh úplného biologického rozkladu za aerobních podmínek lze velmi zjednodušeně vyjádřit rovnicí [1]



/1/

a za anaerobních podmínek pomocí rovnice [1]



/2/

Z rovnice /1/ a /2/ vyplývají následující principiální možnosti sledování biologické rozložitelnosti organických látek v heterogenní fázi:

- a) sledování úbytku substrátu [2]: Pro vodou rozpustné látky jsou základními hodnotícími parametry biologického rozkladu TOC nebo DOC, CHSK popř. chromatografické metody. U vodou nerozpustných látek je kritériem rozkladu změna hmotnosti, jenž je doporučována především u plastů, které obsahují biodegradabilní plniva např. změkčovadla, maziva a stabilizátory (měkčené PVC).
- b) sledování spotřeby kyslíku [3]: Úbytek koncentrace kyslíku v plynné fázi je přímo úměrný aktivitě mikroorganismů. Spotřeba kyslíku se může sledovat manometricky (tlaková čidla), volumetricky, elektrochemicky, paramagneticky a pomocí senzorů se zabudovanou kyslíkovou elektrodou.
- c) měření vývoje konečného produktu rozkladu [4]: Při aerobních podmínkách je konečným produktem mikroorganismů oxid uhličitý. Jeho produkci můžeme měřit pomocí detektorů, které pracují na principu infračervené spektroskopie, plynovou chromatografií, nebo stanovením acidimetrickou titrací. Při anaerobních podmínkách je konečným produktem methan, jehož produkci můžeme stanovit také spektrometricky v infračervené oblasti, a sulfan, který lze stanovit elektrochemicky.
- d) sledování přírůstku mikroorganismů nebo jejich hmotnosti: Biomasu mikroorganismů můžeme vyjádřit pomocí stanovení sušiny (aktivovaný kal) nebo můžeme měřit zvyšující se zákal živného média, kdy se obvykle využívá spektrofotometrické měření.

Tato vymezení jsou však do značné míry formální, poněvadž jednotlivé testy a sledovaná kritéria představují většinou kombinaci uvedených variant. Významným hlediskem pro klasifikaci metod pro stanovení biologické rozložitelnosti je princip, na němž je detekce vstupních nebo výstupních komponent založena:

- 1) Metody založené na fyzikálním principu: Měří se některá fyzikální veličina, která má definovaný vztah a její hodnota je úměrná složení analyzovaného plynu. Z fyzikálních vlastností, které přicházejí v případě respirometru v úvahu, jsou to především:

- * Absorpce záření-fotometrie v infračervené oblasti: Princip absorpce infračerveného záření využívá skutečnosti, že každý druh plynu absorbuje jinou vlnovou délku prošlého záření. Podle intenzity útlumu se pak určí koncentrace plynu. Využívá se v detektorech pro stanovení CO₂, CO, CH₄ i některých dalších organických látek.
 - * Magnetická susceptibilita: Susceptibilita je fyzikální veličina, která popisuje chování látek ve vnějším magnetickém poli. Metody využívající měření susceptibility jsou založeny na poznatku, že látka s větší susceptibilitou je přitahována do míst s větší intenzitou magnetického pole, zatímco látka s menší susceptibilitou je odtud vypuzována [5]. Magnetické analyzátory jsou prakticky vysoce selektivní přístroje pro stanovení kyslíku v plynných směsích.
 - * Změna tlaku/objemu plynné fáze: Změna tlaku (objemu) plynné fáze, ke které dochází v důsledku přestupu kyslíku do kapalně fáze v případě aerobních podmínek testů nebo produkce CH₄ a CO₂ u anaerobních testů, je měřena manometricky (volumetricky).
- 2) Metody založené na fyzikálně-chemickém principu: Sledují se fyzikální jevy provázející chemickou reakci, které se určovaná složka sama účastní, nebo kterou podstatně ovlivňuje [5]. Mezi analyzátory, které využívají tohoto způsobu měření a mohou se použít pro sledování biodegradace organických látek, patří zejména:
- * elektrochemické analyzátory: Označování analyzátorů patřících do této skupiny není jednotné. Jsou nazývány nejen depolarizační, ale také polarografické, polarometrické, galvanické či jenom elektrochemické. Měří se stejnosměrný proud, který prochází mezi elektrodami ponořenými do roztoku elektrolytu. Při průchodu proudem elektrolytem dochází na elektrodách k elektrochemickým reakcím.

V následujících kapitolách je uveden stručný přehled přístrojových a laboratorních technik pro sledování biologické rozložitelnosti.

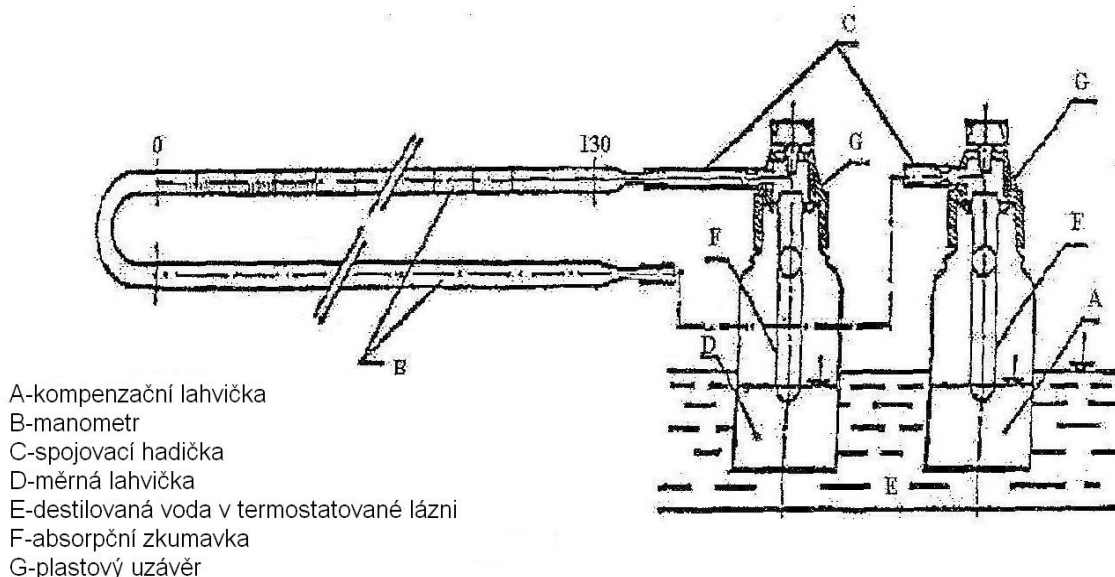
1.1 Analyzátoři založené na manometrickém měření

Respirometr BIAL BOD 10

Respirometr BIAL BOD 10 je doporučován ke sledování biodegradace organických látek ve vodním prostředí. Přístroj využívá manometrický princip, takže sledovanou veličinou je změna tlaku, k níž dojde v důsledku přestupu kyslíku z plynné fáze do kapalné.

Respirometr obsahuje 10 dvoučlenných měřících jednotek, které se sestávají z měřících a kompenzačních lahviček. Do měrných lahviček je dávkován testovaný vzorek, inokulum a minerální médium. Do kompenzačních lahviček je dávkována provzdušněná destilovaná voda a roztok chloridu rtuťnatého, který zajistí abiotické prostředí [6]. Lahvičky jsou pak vloženy do pohyblivého roštu, který je umístěn v temperované vodní lázni. Rošt zajišťuje míchání vzorku. Jednotlivé lahvičky jsou párově propojeny přes manometr.

Při biochemické oxidaci organických látek je zdrojem kyslíku kyslík rozpuštěný v kapalné fázi. Jeho úbytek v kapalné fázi je doplňován z fáze plynné. Oxidací vzniklý oxid uhličitý přechází naopak z kapalné fáze do fáze plynné, kde reaguje s hydroxidem draselným, který je umístěn v absorpční zkumavce. Spotřeba kyslíku se projeví snížením tlaku v plynné fázi měrné baňky a v důsledku toho dojde k posunu kapaliny v manometrické trubici [6].



Obr. 1. Schéma měřící jednotky přístroje BIAL BOD 10

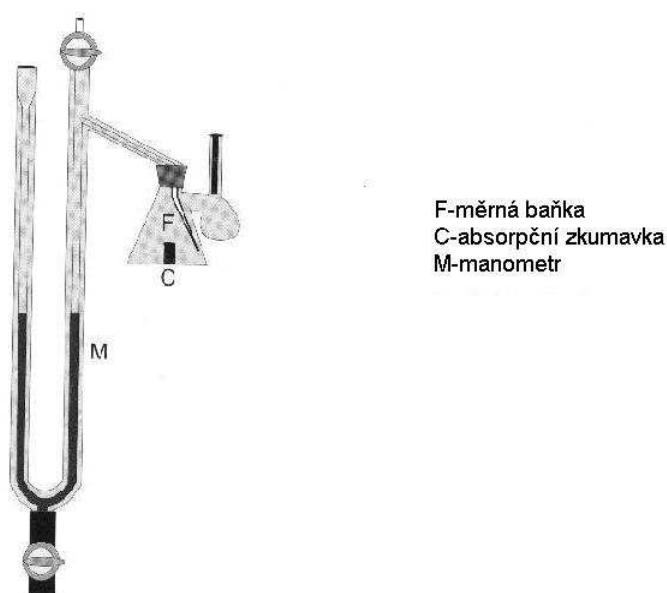
Sledovanou veličinou u respirometru BIAL BOD 10 je BSK (mg/l). Respirometr nedisponuje elektronickým záznamem naměřených dat, teploty a tlaku ani automatickým zavzdušňováním.

Wartburgův respirometr

Wartburgův respirometr je stejně jako respirometr BIAL BOD 10 založen na manometrickém měření úbytku kyslíku pomocí manometrické trubice.

Zařízení se skládá z měrné baňky o známém objemu, která je připojena na manometr. Ten obsahuje kapalinu o známé hustotě. V baňce je přítomná suspenze bakteriálních buněk. Ve středu baňky je umístěna absorpční zkumavka s alkalickým absorbentem oxidu uhličitého. Spotřeba kyslíku mikroorganismy má za následek pokles tlaku uvnitř baňky a následný pokles úrovně hladiny kapaliny uvnitř manometru [7]. Důležitými faktory při měření je konstantní teplota uvnitř baňky, kterou udržuje vodní lázeň, a míchání baňky pro zajištění správného přestupu kyslíku mezi plynnou fází a suspenzí.

Hofman ve své práci [7] uvádí, že ve Wartburgově respirometru je možné měřit i produkci oxidu uhličitého. Měření se provádí porovnáním změny tlaku ve dvou identických baňkách, z nichž jen jedna obsahuje absorbent oxidu uhličitého. Tím vznikne mezi baňkami rozdíl v poklesu tlaku, který se použije pro výpočet produkce oxidu uhličitého.



Obr. 2. Schéma Wartburgova respirometru

Wartburgův respirometr je přístrojově poměrně jednoduchý, naměřená data se však musí zapisovat a kontrolovat ručně. Je doporučován pro posouzení vedlejších účinků chemikálií

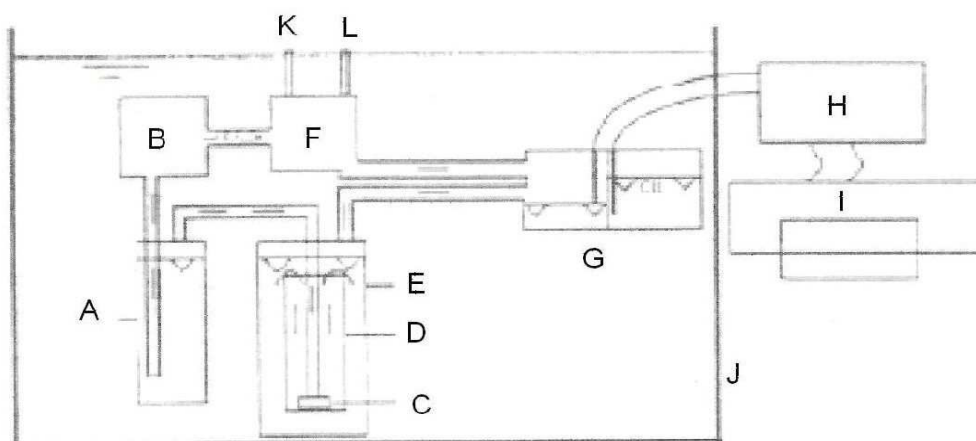
na půdní mikroflóru. Dále ho lze použít pro stanovení aerobní aktivity a růstu v kalech, sedimentech či vodních prostředích.

Arthur Bench respirometr

Arthur Bench respirometr je vhodný pro stanovení organického znečištění, toxicity či inhibice specifických zdrojů odpadních vod atd.

Respirometr se skládá ze zásobníku na vzorek, čerpadla vzduchu, absorpční jednotky na oxid uhličitý a snímače objemu, který měří spotřebu kyslíku [8]. Čerpadlo zajišťuje kontinuální cirkulaci mezi zásobníkem a absorpční jednotkou. Pro maximální přechod kyslíku z plynné fáze do fáze kapalné systém obsahuje difuzér. Ten spolu s cirkulací vzduchu zajišťuje různé míchání fáze se vzorkem a také maximální kontakt mezi organickou hmotou, kyslíkem a mikroorganismy. Rovněž zabraňují usazování pevných částic.

Jakmile mikroorganismy ve vzorku začnou metabolizovat organickou hmotu, začnou spotřebovávat kyslík a produkovat oxid uhličitý, který je odváděn do absorpční jednotky. To způsobí změny v objemu plynné fáze. Tato změna je měřena pomocí snímače objemu. Velikost změny v objemu plynné fáze je úměrná množství kyslíku spotřebovaného mikroorganismy [8].



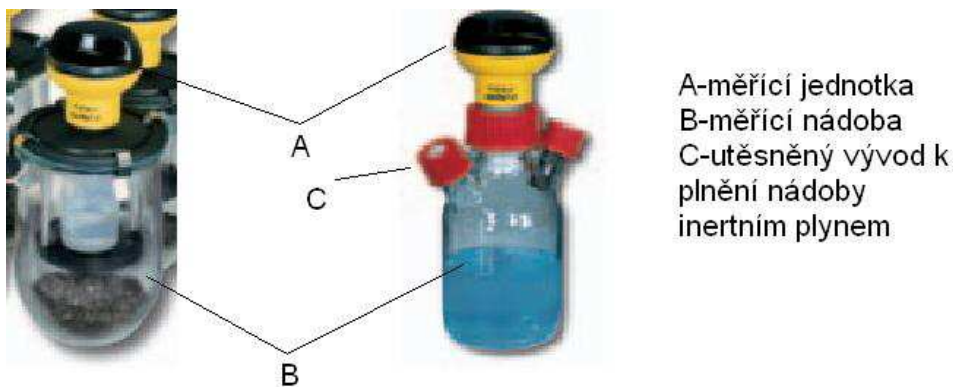
- | | |
|-----------------------|----------------------|
| A-absorpční jednotka | G-snímání objemu |
| B-čerpadlo vzduchu | H-elektronický modul |
| C-difuzér vzduchu | I- zapisovač záznamů |
| D-sloupec vzduchu | J-vodní lázeň |
| E-zásobník se vzorkem | K-vstup vzduchu |
| F-automatický ventil | L-výstup vzduchu |

Obr. 3. Schéma Arthur Bench respirometru

OxiTop

OxiTop je dalším přístrojem pro měření biologické spotřeby kyslíku. Principem je měření podtlaku v uzavřeném systému pomocí tlakového čidla. Vyprodukovaný oxid uhličitý je absorbován hydroxidem sodným. Vzniká tak podtlak, podle kterého se může odečítat přímo hodnota BSK (mg/l) [9]. Měrná hlavice umožňuje automatický výpočet i grafické zobrazení hodnot BSK.

Systém OxiTop je doporučován také k měření respirace v půdě a může sloužit podle výrobců pro prognózování, mapování a ověřování bioremediace nebo pro měření biodegradability pesticidů, fungicidů apod.



Obr. 4. Oxitop Control B6/BM6 a Oxitop Control AN6/AN 12

Hodnotu BSK (mg/l) můžeme vypočítat podle následujícího vztahu [9]:

$$BSK = \frac{M(O_2)}{R \cdot T_m} \left(\frac{V_{tot} - V_1}{V_1} + \alpha \cdot \frac{T_m}{T_o} \right) \cdot \Delta p(O_2) \quad /3/$$

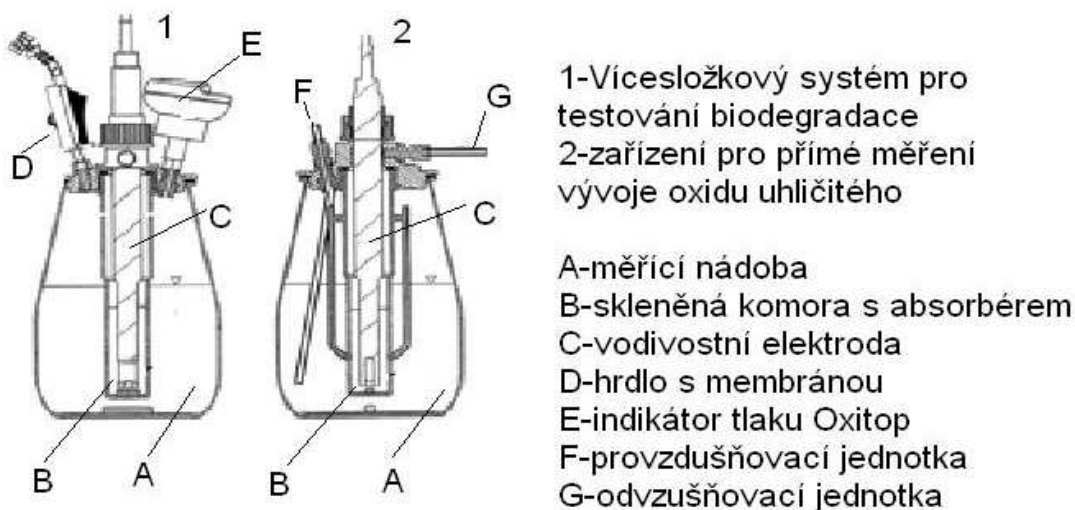
kde $M(O_2)$ – molekulová hmotnost kyslíku [$mg \cdot mol^{-1}$], R – plynová konstanta, T – teplota [$273,15 \text{ } ^\circ K$], T_m – laboratorní teplota [$293,15 \text{ } ^\circ K$], V_{tot} – objem reakční láhve, V_1 – objem vzorku, α - Bunsenuv adsorpční koeficient [0,03103], $\Delta p(O_2)$ – změna parciálního tlaku kyslíku [hPa]

Vedle aerobního stanovení biodegradačních pochodů nabízí OxiTop [10] stanovení anaerobních degradačních procesů. Anaerobní podmínky jsou zajištěny absencí kyslíku pomocí inertního plynu. Po zahájení anaerobní degradace je oxid uhličitý odstraněn pomocí absorberu. Následný rozdíl tlaku je úměrný koncentraci oxidu uhličitého a zbylý přetlak je úměrný koncentraci vzniklého metanu [10].

Zařízení pro měření vývoje oxidu uhličitého a vícesložkový systém pro testování biodegradace

Zařízení pro měření vývoje oxidu uhličitého se skládá z měřicí nádoby na vzorek a skleněné komory. Komora obsahující vodivostní elektrodu je ponořena do testovaného vzorku a naplněna 50 ml 0,25M roztoku hydroxidu sodného či draselného [11]. Absorpční roztok je neustále míchán pomocí magnetického míchadla. Plynná fáze z měřicí nádoby prochází komorou, kde je hydroxidem absorbován vyvinutý oxid uhličitý. Při absorpci jsou průběžně měřeny změny ve vodivosti absorbéru pomocí vodivostní elektrody. Množství uvolněného oxidu uhličitého je přímo úměrné změně vodivosti.

Vícesložkový systém pro testování biodegradace má totožné uspořádání jako zařízení pro měření oxidu uhličitého. Do systému je navíc dodán tlakový senzor Oxitop pro stanovení biologické spotřeby kyslíku. Jelikož je vzniklý oxid uhličitý permanentně odstraňován roztokem hydroxidu, v uzavřeném systému dochází k poklesu tlaku. Podle vzniklého podtlaku se na zařízení Oxitop odečte hodnota BSK (mg/l). Pomocí hrdla s membránou se může z měrné nádoby injekční stříkačkou odebrat vzorek pro stanovení rozpuštěného organického uhlíku [11].



Obr. 5. Schéma zařízení pro měření vývoje oxidu uhličitého a vícesložkového systému pro testování biodegradace.

Sapromat E

Sapromat E slouží k přímému stanovení biochemické spotřeby kyslíku.

Sapromat E se skládá ze čtyř základních součástí:

- * řídicí jednotka,
- * temperovaná vodní lázeň,
- * měřicí jednotka,
- * software na vyhodnocení dat [12]

Měřicí jednotka obsahuje reakční nádoby s absorberem oxidu uhličitého, generátor kyslíku a tlakoměr. Nádoby jsou spojené pomocí plynotěsných hadiček a tvoří uzavřený měřicí systém, který pracuje nezávisle na změnách barometrického tlaku vzduchu. Vzorek uvnitř reakčních nádob je míchán pomocí magnetických míchadel [12].

Vyprodukovaný CO₂ mikroorganismy je absorbován v absorpční zkumavce, což způsobí pokles tlaku v uzavřeném systému. Na vzniklý podtlak reaguje řídicí jednotka, která aktivuje generátor kyslíku. Generace kyslíku je ukončena vyrovnáním tlaku uvnitř systému.

Množství generovaného kyslíku je podle Faradayova zákona úměrné množství procházejícího proudu [12].

Biochemickou spotřebu kyslíku (mg) můžeme vypočítat podle následujícího vzorce:

$$m = \frac{A \cdot I \cdot t}{n \cdot F} \quad /4/$$

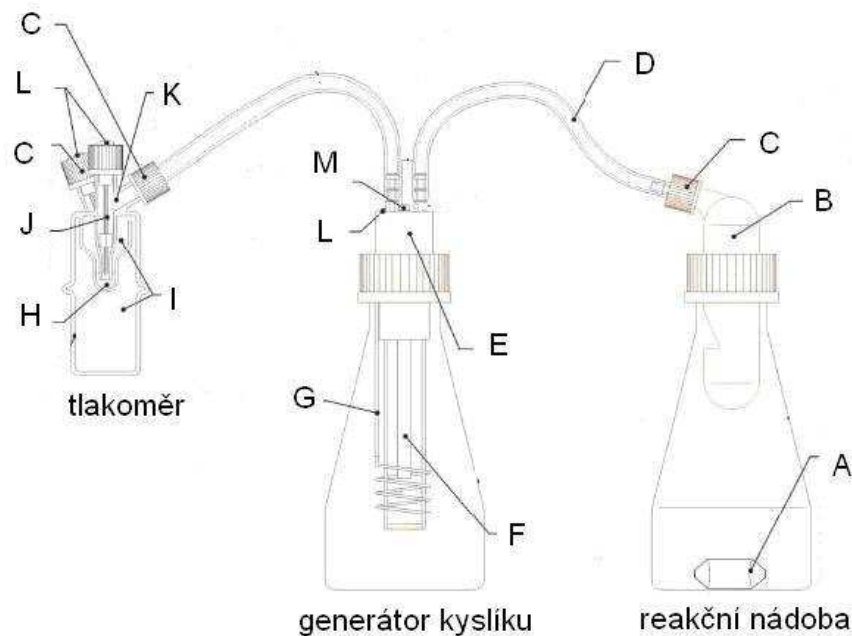
A.....atomová hmotnost kyslíku [g]

I.....procházející proud [mA]

t.....čas [s]

n.....chemické mocenství [1]

F.....Faradayova konstanta [A.s]



A-magnetické míchadlo B-absorpční zkumavka C-uzávěr se závitem D-spojovací hadička E-hlava generátoru F-platinová elektroda G-měděná katoda H-elektrolyt I-prostor se sníženým tlakem J-platinou pokryté elektrody K-měřicí prostor L-objímka z nerez. oceli M-titanová objímka

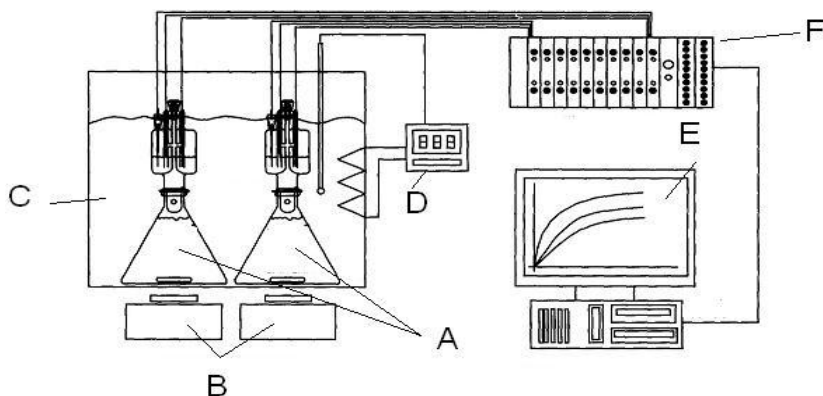
Obr. 6. Schéma měřicí jednotky respirometru Sapromat E

CES respirometr

CES respirometr se skládá z 20 regulovatelných jednotek umístěných ve dvou vodních lázních s teplotou udržovanou v rozmezí 20-24°C (vhodnou pro biologické testy) [13]. Každá jednotka se sestává z 500 ml baňky, absorbéru oxidu uhličitého (10 M KOH) a elektrolytické cely. Elektrolytické cely se skládají z platinové katody, anody a snímací elektrody. Jako elektrolyt se používá pentahydrát síranu měďnatého [13]. Snímací elektroda je nezbytná pro detekování změn hladiny elektrolytu.

Jakmile začnou mikroorganismy přeměňovat organický uhlík na oxid uhličitý, započne absorpce vytvořeného oxidu hydroxidem draselným. Tento proces způsobí snižování tlaku plynu v komoře cely. V cele je přítomen elektrolyt, jehož hladina je pod snímací elektrodou. Jakmile začne docházet ke snižování tlaku v komoře, hladina elektrolytu se dotkne snímací elektrody a elektrolytem začne procházet elektrický proud [13]. Ve vodném roztoku elektrolytu dojde k elektrolyze síranu měďnatého. Na katodě se začne vytvářet měděný povlak a na anodě se vyloučí kyslík. Vytváření kyslíku způsobí vzestup tlaku plynu a tím se obnoví i hladina elektrolytu. Jakmile hladina poklesne pod snímací elektrodu, dojde

k přerušení elektrolýzy. Množství kyslíku potřebné k obnovení tlaku je úměrné velikosti procházejícího proudu a času, po který proud procházel elektrolytem.



- A-baňky se vzorky
- B-magnetická míchadla
- C-vodní lázeň
- D-regulátor teploty vodní lázně
- E-PC
- F-řídící jednotka, zapisování dat

Obr. 7. Schéma CES respirometru

1.2 Analyzátoři založené na principu přímého měření produkce oxidu uhličitého či spotřeby kyslíku

Respirometr pro stanovení biologické rozložitelnosti za aerobních a anaerobních podmínek-System Micro-Oxymax

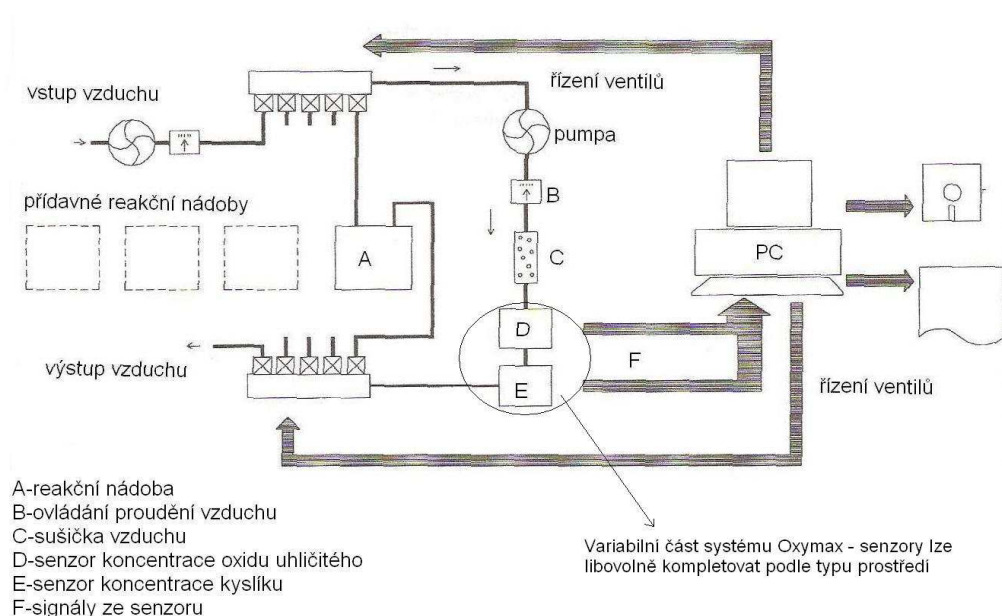
Systémy Micro-Oxymax firmy Columbus jsou velmi variabilní typy respirometrů lišící se pouze uspořádáním systému podle požadovaného typu prostředí a koncentrace stanovovaných plynů v plynné fázi. Měřenými veličinami mohou být biologická spotřeba kyslíku (paramagnetická susceptibilita), produkce oxidu uhličitého (spektrometrie v infračervené oblasti), produkce metanu (spektrometrie v infračervené oblasti) či produkce sulfanu (elektrochemicky) mikroorganismy.

Jedná se o uzavřený systém s cirkulací plynné fáze. V případě aerobních procesů je plynou fází vzduch, u anaerobních podmínek se použije dusíkaté prostředí. Lze jej tedy podle typu zvolených senzorů použít na všechny typy prostředí pro stanovení biologických rozkladů.

Plynná fáze v reakčních nádobách není kontinuálně doplňována, ale dochází zde k periodické cirkulaci plynné fáze přes výše zmíněné senzory např. kyslíku a oxidu uhličitého. Vzduch procházející přes senzory je v první řadě zbaven vlhkosti, takže změny ve vlhkosti vzduchu v reakční nádobě neovlivní údaje o kyslíku a oxidu uhličitém [14].

Během dlouhých experimentů se může koncentrace kyslíku a oxidu uhličitého významně změnit, což může ovlivnit respirační rychlost vzorku. V takových případech může uživatel změnit nastavení systému na periodické provzdušňování reakční nádoby [14].

Pokud je známa změna v koncentracích kyslíku a oxidu uhličitého, velikost reakční nádoby a časový interval, může se vypočítat rychlost spotřeby kyslíku nebo produkce oxidu uhličitého.



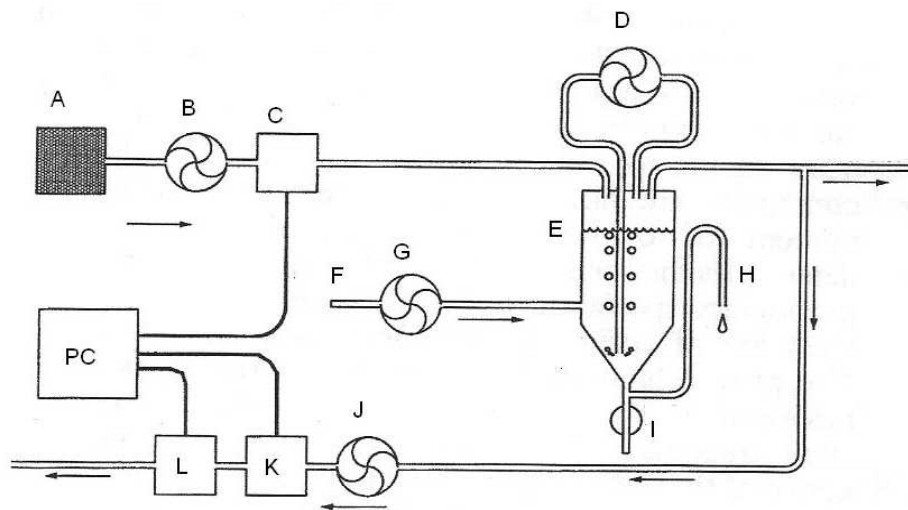
Obr. 8. Schéma respirometru Micro-Oxymax v aerobním režimu

Systém Micro-Oxymax lze používat na aerobní a anaerobní měření ve vodném prostředí, půdě i kompostu. Není však vhodný pro čisté mikrobiální prostředí kvůli špatné údržbě vnitřního systému.

Respirometr pro aktivovaný kal

Jedná se o otevřený systém, který může současně měřit pomocí dvou senzorů spotřebu kyslíku a produkci oxidu uhličitého mikroorganismy. Respirometr obsahuje nádobu pro aktivovaný kal, která pojme až 10 litrů měřeného vzorku [15]. Z této nádoby se může pomocí ventilu pravidelně odebírat vzorek. Aktivovaný kal je neustále provzdušňován pomo-

cí čerpadla. Plynná fáze z měřicí nádoby je odváděna přes senzory ze systému ven. Z hodnot naměřených senzory se může získat tzv. respirační koeficient, což je poměr produkce oxidu uhličitého ke spotřebě kyslíku [15].



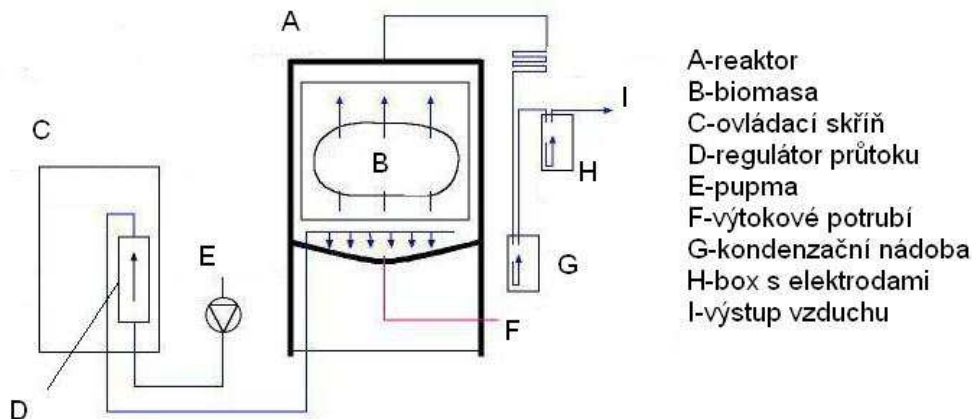
A-filtr vzduchu B-čerpadlo vzduchu C-průtokoměr D-čerpadlo vzduchu E-nádoba s aktivovaným kalem F-vstup kalu G-čerpadlo kalu H-odtok kalu I-vypouštěcí ventil J-čerpadlo vzduchu K- senzor oxidu uhličitého L-senzor kyslíku

Obr. 9. Schéma respirometru pro aktivovaný kal firmy Columbus Instruments

Adiabatický dynamický respirometr firmy Costech International

Respirometr firmy Costech International je doporučován ke stanovení biologické stability biologických materiálů. Při testech se hodnotí jak spotřeba kyslíku, tak produkce oxidu uhličitého. Respirometr využívá dynamických metod, kdy dochází ke kontinuální aeraci, takže má biomasa trvalý přísun kyslíku. Dále jsou odváděny odpadní plyny metabolismu biomasy, především oxid uhličitý. Průtok vzduchu dodávaný do biomasy se může nastavit podle spotřeby kyslíku manuálně nebo automaticky.

Vzduch prochází regulátorem průtoku a plynoměrem, pak jde do samotného reaktoru, kde zvolna prochází biomasou. Při tom dochází ke spotřebě kyslíku mikroorganismy. Z reaktoru proudí vzduch do kondenzační nádoby, kde se vysráží vodní pára, která by mohla ovlivňovat přesnost měření. Po kondenzaci je vzduch veden do elektrodového boxu, kde probíhá měření koncentrace kyslíku [16].



Obr. 10. Schéma adiabatického dynamického respirometru

Firma Costech International vyrábí i přenosná měřicí zařízení určená na kontrolu kompostů. Mezi tato zařízení patří přenosný oxymetr Port-O₂ matic-Pump-3052 [16]. Tento přenosný přístroj měří koncentraci kyslíku v tuhé biomase během aktivní fáze stabilizace nebo během zrání. Zařízení se skládá ze sondy k odsávání kyslíku a měřidla kyslíku, měření probíhá polarometricky [16].

Smíšený respirometr podle A. Krist Gernaey

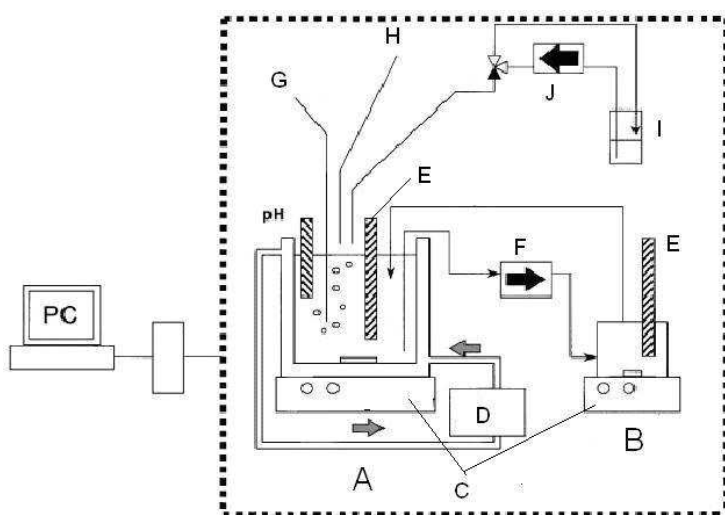
U smíšeného respirometru je zkombinován princip respirometru typu proudící plynná fáze-nepohyblivá kapalná fáze s principem respirometru typu nepohyblivá plynná fáze-proudící kapalná fáze [17].

Respirometry typu proudící plynná fáze-nepohyblivá kapalná fáze jsou kontinuálně provzdušňovány, takže koncentrace kyslíku zde není limitujícím faktorem. Díky neustálému přísunu kyslíku může respirometr pracovat s vyššími koncentracemi aktivovaného kalu.

U respirometrů typu nepohyblivá plynná fáze-proudící kapalná fáze je přečerpáván provzdušněný aktivovaný kal v respirační komoře. Koncentrace rozpuštěného kyslíku se měří na vstupu i výstupu uzavřené respirační komory [17].

Smíšený respirometr obsahuje obě nádoby, otevřenou nádobu i uzavřenou respirační komoru. Aktivovaný kal je nepřetržitě přečerpáván mezi otevřenou nádobou a respirační komorou. Obě nádoby jsou vybaveny detektory rozpuštěného kyslíku, které jsou napojeny na čidlo. To vydává signály o koncentraci kyslíku, které jsou zaznamenávány do počítače [17].

Otevřená nádoba dále obsahuje pH elektrodu, která zaznamenává změny pH. Hodnota pH biologického systému odpovídá mikrobiálním reakcím a často poskytně indikaci některých pokračujících biologických reakcí. Mezi tyto reakce patří i degradace organických látek. Degradace těchto látek, které jsou pro mikroorganismy zdrojem uhlíku, způsobí změnu v hodnotě pH. Ve smíšeném respirometru se požadovaná hodnota pH navolí mezi 7,5 až 8,3 [17]. Jakmile se hodnota pH dostane mimo tento rozsah, je do systému dávkována kyselina či hydroxid. Dávkování je umožněno elektromagnetickými ventily, které se v krátkých intervalech otevírají. Po dosažení vyhovující hodnoty pH se ventily uzavřou, čímž se tok kyseliny a zásady usměrní do zásobních nádob.



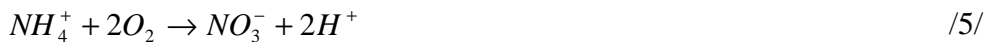
- | | |
|---------------------------------|----------------------|
| A-provzdušňovaná nádoba | F-čerpadlo 1 |
| B-respirační komora | G-aerace |
| C-magnetická míchadla | H-dávkování kyseliny |
| D-chladicí soustava | I- roztok hydroxidu |
| E-detektor rozpuštěného kyslíku | J-čerpadlo |

Obr. 11. Schéma smíšeného respirometru podle A. Krist Gernaey

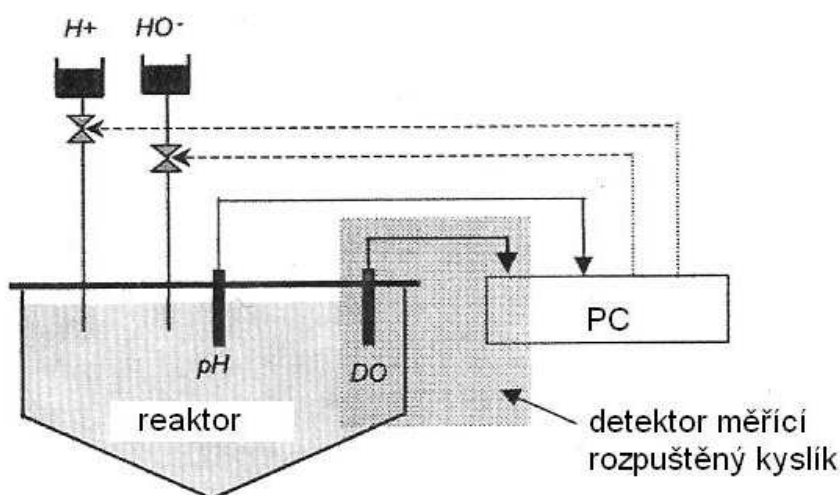
Respirometr podle Z. Yuan

Respirometr obsahuje reaktor, který je vybaven detektorem rozpuštěného kyslíku a elektrodou na měření pH. Mikroorganismy přítomné v reaktoru spotřebovávají kyslík, jehož koncentrace je měřena pomocí detektoru.

Respirometr může sloužit pro měření koncentrace amoniaku (amonných iontů) ve vzorku kalu sledováním produkce vodíkových iontů mikroorganismy, které redukuje amonné ionty na dusičnany (nitrifikace):



Hodnota pH je udržována na konstantní hodnotě mezi 7,5-8,2 [18]. To je dosaženo přidáváním 0,05 N NaOH [18] pomocí elektromagnetického ventilu. Množství přidávaných hydroxylových iontů je úměrné množství vyprodukovaných vodíkových iontů. Signály z detektoru rozpuštěného kyslíku i z pH elektrody jsou zaznamenány a přeneseny do příslušného počítače.



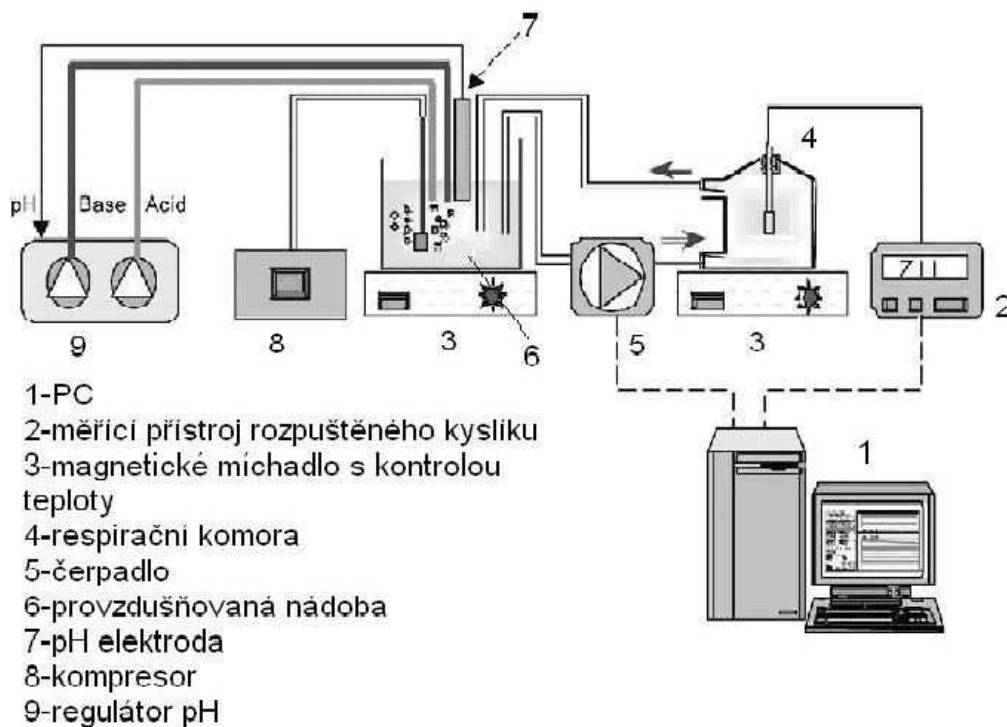
Obr. 12. Schéma respirometru podle Z. Yuan

Uzavřený respirometr podle S. Marsili-Libelli

V uzavřeném respirometru je substrát dodáván do provzdušňované nádoby, odkud je pomocí čerpadla periodicky přenášen do uzavřené respirační komory. Tato komora je vybavená snímačem rozpuštěného kyslíku připojeného přes měřicí přístroj k počítači.

Respirometr pracuje v předem daných časových intervalech: 20 sekund dochází k čerpání substrátu, 10 sekund je respirometr v nečinném stavu a 30 sekund se měří respirace. Celkový cyklus činí 60 sekund [19].

Obě nádoby jsou kontinuálně míchány a temperovány na teplotu 20 °C. Hodnota pH v provzdušňované nádobě je udržována na požadované hodnotě 7,5 až 8,5 [19]. Při změně pH je podle potřeby dávkován hydroxid či kyselina pomocí regulátoru pH.



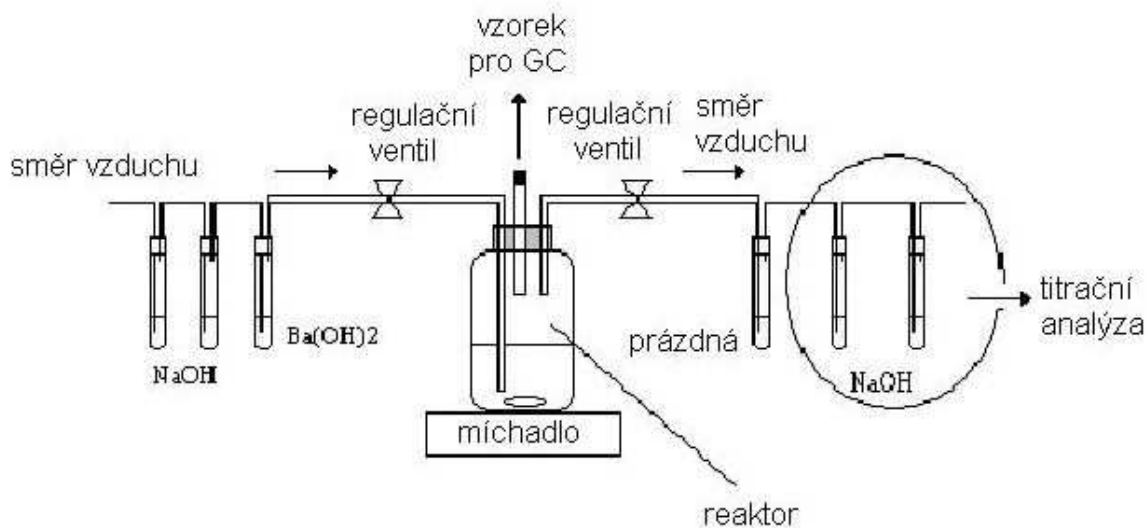
Obr. 13. Schéma uzavřeného respirometru podle S. Marsili-Libelli

1.3 Testovací aparatury používané na UIOŽP

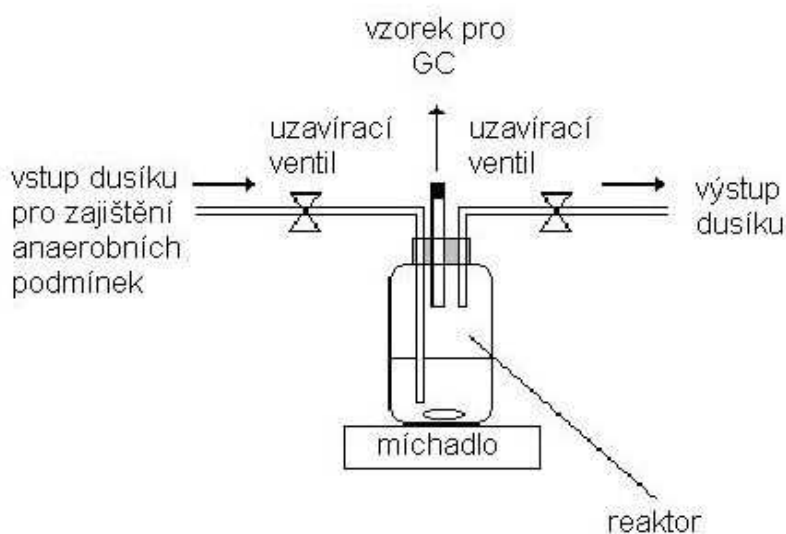
Lahvové aparatury

Jedná se o zařízení pro sledování biodegradace v aerobním či anaerobním prostředí na základě změn ve složení plynné fáze. Nejedná se o automaticky pracující systémy, analytická koncovka je ale instrumentální-plynově chromatografické stanovení produkce CO_2 (v aerobním či anaerobním prostředí), spotřeby kyslíku (aerobní) resp. produkce metanu (anaerobní prostředí).

U aerobního systému je do reaktoru vháněn vzduch, který je zbaven atmosférického CO_2 v absorbérech s NaOH ($\text{Ba}(\text{OH})_2$).



Obr. 14. Systém s možnou acidimetrickou i GC koncovkou

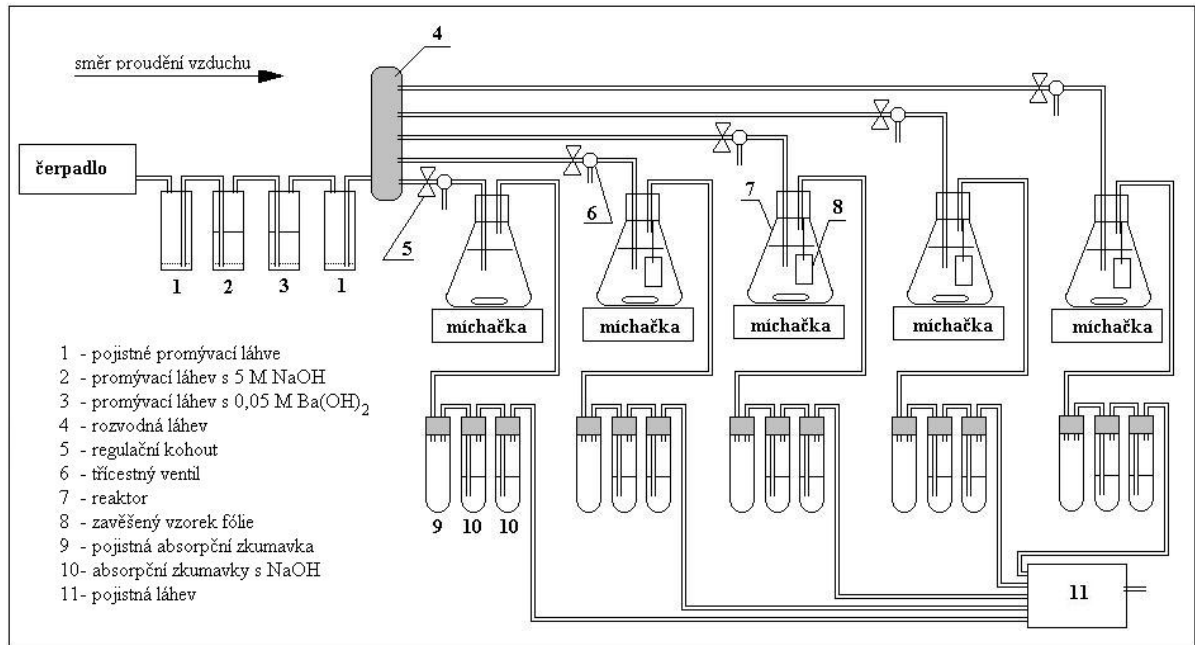


Obr. 15. Anaerobní verze systému

Laboratorní aparatura pro sledování biodegradace na základě změn TOC a produkce CO₂

Aparatura obsahuje paralelně zapojené reaktory, do kterých je vháněn vzduch zbavený atmosférického CO₂. Třicestný ventil umožňuje odběr kapalného vzorku pro stanovení TOC v průběhu měření, aniž by došlo k narušení plynné fáze. Množství vyprodukovaného

CO₂ mikroorganismy se může stanovit titrací zbytkového množství NaOH odměrným roztokem kyseliny chlorovodíkové. Aparaturu lze použít i pro vodou nerozpustné vzorky.



Obr. 16. Laboratorní aparatura pro sledování biologické rozložitelnosti

2 ELEKTROCHEMICKÝ RESPIROMETR BI –2000

Elektrochemický respirometr BI-2000 je založen na manometrickém principu měření, takže náleží do kapitoly 1.1. Je však základem diplomové práce, proto je uveden v samostatné kapitole.

Elektrochemický respirometr BI- 2000 je určen pro sledování mikrobiálních respirometrických experimentů na základě spotřeby kyslíku, probíhajících v aerobních podmínkách. Spotřebovaný kyslík je generován elektrolyticky. Respirometr BI-2000 je navržen na měření rychlosti respirace mikroorganismů v roztoku, půdě či v kalu. Dále je vhodný pro stanovení biologické spotřeby kyslíku (BSK), stanovení biologické rozložitelnosti organických látek, sledování toxicity průmyslových sloučenin nebo také pro bioremediaci či kompostování.

2.1 Součásti respirometru BI-2000

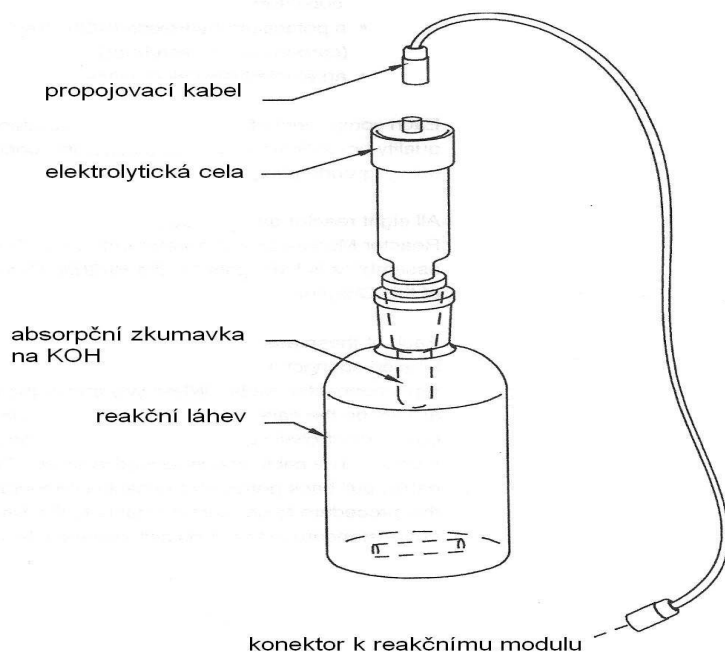
Respirometr BI-2000 se skládá ze dvou až čtyř reakčních modulů po 8 reakčních nádobách s elektrolytickými celami, temperované vodní lázně, regulátoru teploty a osobního počítače. Výhodou tohoto systému je, že se mohou v jednotlivých reakčních nádobách nastavit různé experimentální podmínky (koncentrace a druh substrátu, koncentrace inokula atd.).

2.1.1 Reakční modul

Reakční modul obsahuje elektronický hardware, který je důležitý pro vyvíjení kyslíku, dále pak snímání teploty a barometrického tlaku, regulaci teploty a magnetické motory k míchání. Každý reakční modul je určený pro osm reakčních nádob [20].

2.1.2 Reakční nádoby a cely

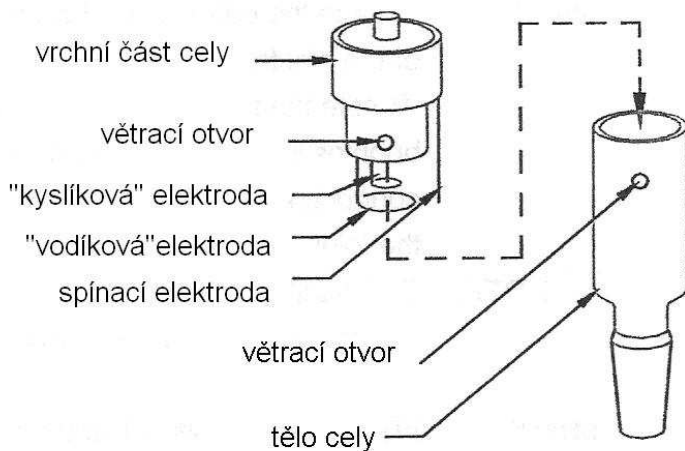
Reakční nádoby spolu s elektrolytickými celami a absorpčními zkumavkami na KOH tvoří reaktor, který zabezpečuje vhodné podmínky pro experimenty. Všechny části reaktoru jsou vyrobeny z kvalitního borosilikátového skla a opatřeny zábrusy. Při experimentu jsou jednotlivé nádoby ponořeny do vodní lázně a propojeny pomocí spojovacích kabelů k přednímu panelu reakčního modulu. Před zahájením vlastního měření je do nádob naddávován substrát a inokulum v určité koncentraci a minerální médium, které zajistí vhodnou koncentraci biogenních prvků. Je třeba dodržovat optimální poměr makrobiogenních prvků (dusík, fosfor), který je doporučován nejčastěji C:N:P = 100:10:1 [6].



Obr. 17. Reaktor tvořený z reakční nádoby, elektrolytické cely a absorpční zkumavky

Elektrolytické cely se skládají z hlavní části, tzv. těla cely, která je rozdělena na vnější a vnitřní část. Cely je pomocí zábrusu napojena na absorpční zkumavku. Na horní část těla cely je stejným způsobem zavedena vrchní část cely. Ta obsahuje tři druhy elektrod:

- * „kyslíková“ elektroda
- * „vodíková“ elektroda
- * spínací elektroda [20]



Obr. 18. Součásti elektrolytické cely

Spínací i vodíková elektroda jsou umístěny ve vnější části cely, kyslíková elektroda je vložena do vnitřní části cely. Před zahájením experimentu je nutno zajistit těsnost celého reaktoru namazáním veškerých broušených spojů reaktoru.

2.2 Princip měření v respirometru BI-2000

Mikroorganismy přítomné v reakční nádobě potřebují k přeměně chemických látek neustálý přísun kyslíku. Rozpuštěný kyslík získávají z vodní fáze. Spotřebovaný kyslík je do vodní fáze doplňován z fáze plynné. Oxid uhličitý je absorbován v absorpčních zkumavkách hydroxidem draselným. Výsledkem je vznik mírného podtlaku, který způsobí pokles hladiny elektrolytu ve vnější části elektrolytické cely [20]. Jako elektrolyt se používá 1N kyselina sírová.

Jakmile hladina elektrolytu poklesne, dojde k přerušení kontaktu mezi spínací elektrodou a elektrolytem. To způsobí aktivaci cely, takže začne procházet mezi dvěma elektrodami ponořenými do elektrolytu elektrický proud.

Disociací molekul kyseliny sírové v roztoku vzniknou kladné ionty vodíku a záporné ionty SO_4^{2-} . Průchodem elektrického proudu dojde k pohybu kladných iontů vodíku k záporné elektrodě, kde přijmou elektron. Na záporné elektrodě se tak vyloučí vodík. Vodík je pak vypouštěn do atmosféry pomocí otvorů na stěně cely. Vzniklé záporné ionty SO_4^{2-} se pohybují ke kladné elektrodě. Zde odevzdají přebytečné elektrony a vzniklé radikály SO_4 okamžitě reagují s vodou za vzniku molekuly kyseliny sírové. Při této reakci se uvolní molekula kyslíku. Na kladné elektrodě se tedy vyloučí kyslík.

Množství vyprodukovaného kyslíku je úměrné elektrickému proudu podle Faradayova zákona.

Jakmile se tlak uvnitř cely opět ustálí, hladina elektrolytu ve vnější části cely začne stoupat. Tím se přeruší elektrolytická reakce. Množství vyprodukovaného kyslíku je vypočtené a uloženo v počítači.

3 VALIDACE/VERIFIKACE

Požadavky, které klademe na instrumentální techniky pro stanovení biologické rozložitelnosti, platí nejen pro tuto skupinu přístrojů, nýbrž mají všeobecnou platnost pro všechny prostředky provozního i laboratorního měření. U laboratorních aparatur a respirometrů se však objevují některé netypické vlastnosti nepříliš obvyklé u jiných typů přístrojů. Funkční vlastnosti musí tedy přirozeně odpovídat v maximální míře daným požadavkům. Jsou to hlavně rozsah, přesnost, nezávislost údajů na vnějších vlivech a selektivita [5].

Proces, při kterém se určuje vhodnost použití daného systému pro získání relevantních dat, označujeme pojmem validace. Při validaci posuzujeme, zda jsou parametry metody srovnatelné s požadavky na analytická data – výsledky [21]. Validace zahrnuje specifikaci požadavků, stanovení pracovních charakteristik analytické metody, kontrolu, že požadavky mohou být použitím analytické metody splněny a prohlášení o jeho platnosti [22].

Poté následuje tzv. verifikace, tj. ověřování specifických požadavků a poskytnutí důkazu, že jsou dané specifické požadavky pro zamýšlené použití splněny. Verifikace by se měla provádět vždy při opravě či úpravě analytického systému nebo při změně matrice. Verifikací tedy ověřujeme již validovanou metodu.

3.1 Druhy validací

3.1.1 Interní (vnitřní) validace

Validace metody v rámci jedné laboratoře se nazývá interní (vnitřní) validace a podle účelu může tato validace být průzkumová, plná atd. [23]. Průzkumovou validací rozumíme metodu, jejímž cílem je stanovit vhodnost analytické metody jen na omezeném počtu vzorků. Po prokázání vhodnosti průzkumové validace následuje validace plná. Ta se zaměřuje na vyhodnocení všech požadovaných parametrů, čímž demonstruje vhodnost dané metody.

3.1.2 Externí (vnější) validace

Externí validace zahrnuje interní validaci společně s validací metody srovnáním výsledků metody z více laboratoří (mezilaboratorní porovnávací zkoušky) a zahrnuje výpočet reprodukovatelnosti metody.

3.2 Validační parametry

Zjišťování jednotlivých validačních parametrů se děje podle pevného a předem dohodnutého protokolu [21]. Zde je uvedena jen malá část validačních parametrů.

Selektivita metody

Selektivita metody je schopnost rozlišovat mezi analytem, který má být stanoven, a ostatními složkami vzorku (matrice). Signál odpovídající sledovanému analytu může být ovlivněn třemi způsoby:

- * matrice ovlivňuje (zvyšuje nebo snižuje) citlivost měření;
- * některé složky matrice přispívají k analytickému signálu analytu, aniž ovlivňují citlivost měření. Takový vliv označujeme jako vliv interferentů;
- * kombinací vlivu matrice a interferentů [22]

Vliv matričních efektů i vliv interferentů se může minimalizovat použitím vhodných separačních technik.

Mez detekce

Mez detekce daného analytického postupu je dána nejmenším množstvím analytu ve vzorku, které může být detekováno [22]. Odpovídá tak koncentraci analytu, pro kterou je analytický signál statisticky významně odlišný od šumu.

K odhadu hodnoty meze detekce lze využít několika experimentálních přístupů. Nejčastějším přístupem je odhad na základě experimentálního vyhodnocení variability měření slepých vzorků. Variabilita je stanovena přímou metodou z opakovaných měření slepých vzorků nebo vzorků s velmi malým množstvím analytu [21].

Pracovní rozsah, linearita

Rozsah a linearita metody jsou dvě charakteristiky, které spolu úzce souvisejí.

Pracovní rozsah je interval hodnot koncentrací nebo obsahů a je úzce svázán s tvarem závislosti analytického signálu na koncentraci (nebo obsahu) analytu v širokém intervalu koncentrací (obsahů) [22].

Pracovní rozsah je validační parametr, který by se měl určovat mezi prvními. Stanoví se měření vzorků s různou koncentrací (obsahem) daného analytu, při čemž se ověřuje koncentrační rozsah, ve kterém můžeme dosáhnout přijatelně správné a přesné hodnoty.

Linearita je chápána jako přímková závislost mezi dvěma náhodnými proměnnými, tj. odezvou instrumentace (analytickým signálem) a koncentrací analytu [23]. Linearita metody má úzký vztah ke kalibraci.

Robustnost

Robustnost analytické metody je mírou její kapacity zůstat netečný vůči malým, ale závažným změnám parametrů metody a poskytuje indikaci o jeho spolehlivosti během běžného používání [22]. Při testu robustnosti tedy určujeme matematicko-statistickým postupem, jak je analytický signál závislý na změnách parametrů. Mezi takové parametry řadíme teplotu, tlak, vlhkost, pH, koncentraci činidel atd.

Výtěžnost

Výtěžnost udává poměr množství (koncentrace) analytu, které získáme danou metodou, ku přijaté referenční hodnotě (hodnota certifikovaného referenčního materiálu nebo referenční hodnota získaná jinou nezávislou metodou). Výtěžnost analytické metody souvisí i se správností metody a je důležitou složkou odhadu nejistot výsledku takové analytické metody, ve kterém se vyskytuje separace analytu jako jedna z analytických operací [22]. Výtěžnost je třeba zjišťovat při několika koncentracích, nejlépe sestrojením křivky výtěžnosti.

Správnost a přesnost (opakovatelnost a reprodukovatelnost)

Správnost metody vyjadřuje odchylku výsledků od skutečné hodnoty. Skutečná hodnota je experimentálně nedosažitelná. Je to konstanta, která vyjadřuje skutečný obsah analytu ve vzorku. Mírou správnosti je chyba, tj. odchylka, vychýlení výsledků od skutečné (nebo referenční) hodnoty [21].

Přesnost metody vyjadřuje těsnost souhlasu mezi nezávislými výsledky, získaných za předem stanovených podmínek. Obvykle se uvažuje, že přesnost může být vyjádřena dvěma mírami: směrodatnou odchylkou opakovatelnosti a směrodatnou odchylkou reprodukovatelnosti.

Opakovatelnost vyjadřuje těsnost shody mezi nezávislými výsledky, které získá tentýž pracovník, provedením stejnou metodou na identickém analytu, v téže laboratoři a při použití téhož laboratorního vybavené, za stejných podmínek v krátkém časovém intervalu.

Reprodukovatelnost metody vyjadřuje těsnost shody mezi výsledky, které získají různí pracovníci měřením stejného analytu stejnou metodou. Měření je však prováděno za různých podmínek (laboratorní vybavení, místo, podmínky, čas).

4 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Tato diplomová práce je zaměřena na sledování biologické rozložitelnosti organických látek v heterogenním prostředí za aerobních podmínek. Biologická rozložitelnost byla sledována v respirometru BI-2000.

Respirometr BI-2000 je na UIOŽP nový, proto cílem diplomové práce bylo navrhnout a vypracovat metodický pokyn pro sledování biologické rozložitelnosti organických látek v respirometru BI-2000.

Jelikož většinou nejsou dostupné informace o validaci/verifikaci respirometrických aparatur, metodický pokyn byl zpracován jako soupis významných faktorů ovlivňujících průběh biologické rozložitelnosti organických látek.

Jednotlivé experimenty byly prováděny s modelovými látkami: benzoanem sodným, glycerinem, přírodním škrobem Meritena 100, kaprolaktamem a anilinem.

Jednotlivá naměřená data byla zpracována pomocí matematicko-statistických metod.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Chemikálie a roztoky

Chemikálie

Při experimentech byly použity vždy chemikálie čistoty p.a. od firmy Lachema, o.p., Brno, pokud není uvedeno jinak: síran hořečnatý, chlorid vápenatý, hexahydrát chloridu železitého, síran amonný, dusičnan draselný, fosfátový pufr, kyselina sírová, hydroxid draselný (firma Penta, ing. Petr Švec), allylthiomocovina, benzoan sodný, kaprolaktam, glycerin, přírodní neupravený kukuřičný škrob Meritena 100 (firma Amylum, a.s., Slovenská republika), anilin (firma Lach-Ner, s.r.o., Česká republika),

Minerální médium

1) Standardní minerální médium bylo připraveno v souladu s normou ČSN EN 29408 [3]. Na přípravu standardního minerálního média (1 litr) byly použity následující zásobní roztoky (připravené rozpuštěním uvedeného množství jednotlivých chemikálií v 1 litru destilované vody):

- 1 ml MgSO_4 – síran hořečnatý (22,5 g)
- 1 ml CaCl_2 – chlorid vápenatý (27,5 g)
- 1 ml $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – hexahydrát chloridu železitého (0,25 g)
- 5 ml $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – síran amonný (10,0 g)
- 20 ml fosfátový pufr
- 1 ml stopové prvky:
 - H_3BO_3 – kyselina boritá (0,75 g)
 - $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – heptahydrát síranu železitého (3,00 g)
 - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – heptahydrát síranu zinečnatého (0,10 g)
 - $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – tetrahydrát síranu manganatého (0,50 g)
 - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – pentahydrát síranu měďnatého (0,05 g)
 - $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – heptahydrát síranu kobaltnatého (0,1813 g)
 - $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – tetrahydrát molybdenynu amonného (0,05 g)

Zásobní roztoky byly dávkovány do 1 litrové odměrné baňky s 24 hodin provzdušňovanou destilovanou vodou. Po nadávkování všech uvedených zásobních roztoků byl provzdušňovanou destilovanou vodu doplněn objem po rysku.

2) Dusičnanové minerální médium: složení bylo analogické jako ad) 1, ale s následujícími rozdíly:

- 1,5 ml $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – síran amonný (10,0 g)
- 1 ml KNO_3 (zásobní roztoku 53,55 g/l) – dusičnan draselný
- 40 ml fosfátový pufr

Připravené dusičnanové minerální médium bylo použito pro přípravu zásobní suspenze kalu. Přiměřené množství kalu bylo centrifugováno a biomasa resuspendována v připraveném dusičnanovém minerálním médiu. Zásobní suspenze kalu byla provzdušňována sedm dní před nasazením v testech.

5.2 Biologický materiál

Při jednotlivých testech byl jako inokulum použit aktivovaný kal z čistírny městských odpadních vod Malenovice. Odebraný aktivovaný kal byl po dodání přefiltrován přes hrubé síto, 3x dekatován pitnou vodou a poté 24 hodin provzdušňován. Po 24 hodinách byl takto upravený kal centrifugován při 3000 ot/min po dobu 10 minut. Supernatant byl odlit a biomasa byla suspendována v příslušném minerálním médiu.

5.3 Modelové látky

Pro jednotlivé experimenty byly použity následující standardní látky od firmy Lachema, o.p., Brno (pokud není uvedeno jinak):

- Benzoan sodný p.a., TSK = 1609 mg/g
- Glycerin – 30 % roztok, TSK = 1216,16 mg/g
- Meritena 100 – přírodní kukuřičný škrob, CHSH_{Cr} = 979 mg/g (firma Amylum, a.s., Slovenská republika)
- Kaprolaktam, TSK = 2120,87 mg/g
- Anilin, TSK = 2405,24 mg/g (firma Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)

5.4 Charakteristika reálných vzorků

Označení: 2 CAS 1.1 – pracovní označení moraprim **1.1**

3 CAS 2.1 – pracovní označení moraprim **2.1**

dodavatel: Moraprim s.r.o Luhačovice

Firmou Moraprim byly poskytnuty pouze následující informace: Jedná se o vzorky obsahující 70 – 80 % vody, kyselinu aminokapronovou a aminokapronan vápenatý a dodavatelem blíže nespecifikovanou „účinnou složku“. Vzhledem ke skutečnosti, že nebylo známo přesné složení vzorků bylo k nim přistupováno jako ke vzorkům neznámým. Jejich základní charakteristika nutná pro přípravu testů je uvedena v tabulce 1.

Tab. 1. Vstupní charakteristika testovaných vzorků

VZOREK	TOC	pH
	g.l ⁻¹	-
č. 1.1	144,7	7,447
č. 2.1	155,82	7,702

5.5 Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí

- Metodou stanovení spotřebou kyslíku v uzavřeném respirometru
- Stanovení byla prováděna v souladu s normou č. ČSN EN ISO 9408.
- Pokud byla standardem látka vodou rozpustná, byla dávkována ve formě roztoku. Pokud byl substrát nerozpustný, byl dávkován přímo do reakční nádoby (přímá navážka).

Základní výpočty:

$$D_{TOC} = 100 - \left[\frac{(TOC_{kon.sub.} - TOC_{kon.sl.p.}) \cdot 100}{TOC_{poč.sub.}} \right] \quad /6/$$

D_{TOC} procento odstranění substrátu podle úbytku organického uhlíku (TOC) [%]

$TOC_{kon.sub.}$ veškerý organický uhlík v substrátu na konci měření [mg/l]

$TOC_{kon.sl.p.}$ veškerý organický uhlík ve slepém pokusu na konci měření [mg/l]

$TOC_{poč.sub.}$ veškerý organický uhlík v substrátu na začátku měření [mg/l]

$$BSK_s = \frac{(BSK_c - BSK_{sl.p.}) \cdot R}{c_{ZR}} \quad /7/$$

BSK _s	substrátová biochemická spotřeba kyslíku [mg/g]
BSK _c	celková biochemická spotřeba kyslíku [mg/l]
BSK _{sl.p.}	biochemická spotřeba kyslíku u slepého pokusu [mg/l]
R	ředění zásobního roztoku substrátu (12,5) [1]
c _{ZR}	koncentrace zásobního roztoku substrátu [g/l]

$$TSK = \frac{(4a + b - 2c - 3d) \cdot 8}{Mr} \quad /8/$$

TSK	teoretická spotřeba kyslíku [mg/g]
A	počet atomů uhlíku v substrátu
B	počet atomů vodíku v substrátu
C	počet atomů kyslíku v substrátu
D	počet atomů dusíku v substrátu
Mr	relativní molekulová hmotnost substrátu [g/mol]

5.6 Použité přístroje

- Elektrochemický respirometr BI-2000, Bioscience inc., USA
- Analyzátor celkového organického uhlíku, Shimadzu
- Micro-Oxymax firmy Columbus inc. USA
- Centrifuga
- Sušárna Memmert model 100, SRN
- pH-metr

5.7 Pracovní postupy

5.7.1 Respirometr BI-2000 (Bioscience inc., USA)

Respirometr BI-2000 pracuje na manometrickém principu měření s elektrolytickou generací kyslíku, který je během experimentu spotřebováván mikroorganismy uvnitř reakční nádoby. Podrobný popis respirometru BI-2000 je uveden v literární části diplomové práce (kap.2).

Při přípravě experimentu byl zvolen celkový objem reakční suspenze 500 ml. Do jednotlivých reakčních nádob bylo dávkováno minerální médium, substrát (standardní látka nebo

reálný vzorek) a inokulum ve zvolených koncentracích. Jako inokulum byl použit aktivovaný kal z čistírny odpadních vod Malenovice. Jednotlivé reaktory byly ponořeny do vodní lázně ($25\pm 1^\circ\text{C}$) a propojeny spojovacím kabelem k přednímu panelu reakčního modulu. Po nasazení všech potřebných částí na reakční nádobu byl proveden vždy test těsnosti a v konečné fázi byl spuštěn daný experiment. Dávkování jednotlivých komponent do reakčních nádob je pro každý test uvedeno ve výsledkové části.

5.7.2 Respirometr MicroOxymax (Columbus inc., USA)

Respirometr MicroOxymax pojme 30 reakčních nádob. Objem reakční suspenze byl zvolen 50 ml. Do jednotlivých nádob bylo dávkováno minerální médium, substrát (standardní látka) a inokulum. Koncentrace jednotlivých komponent v reakčních nádobách je uvedena ve výsledkové části (Test COLUMBUS_TN_1). Při experimentu dochází k periodické cirkulaci plynné fáze v reakčních nádobách přes 2 senzory: senzor pro analýzu O_2 , CO_2 . Podrobnější popis respirometru MicroOxymax je uveden v literární části diplomové práce (kap. 1.2).

5.8 Běžné laboratorní analýzy a postupy

Stanovení organicky vázaného uhlíku

Pro stanovení organicky vázaného uhlíku byl použit Analyzátor celkového organického uhlíku, Shimadzu. Princip stanovení TOC je založen na oxidaci veškerého organického uhlíku ve vzorku v trubici s platinovým katalyzátorem při 670°C v proudu vzduchu. Vzniklý CO_2 je veden do NDIR detektoru (Non-Disperze Infrared detektor), kde signál vznikající absorpcí příslušné vlnové délky je registrován jako plocha píku přímo úměrná koncentraci TOC ve vzorku [24].

Stanovení sušiny aktivovaného kalu

Sušina aktivovaného kalu byla stanovena vakuovou filtrací 10 ml suspenze aktivovaného kalu přes předem vysušený a zvážený filtrační papír (o plošné hmotnosti 85 g.m^2). Poté byl filtrační papír vysušen do konstantní hmotnosti při teplotě 105°C . Po vychladnutí v exsikatoru byl zvážen na analytických vahách. Sušina aktivovaného kalu byla vyjádřena rozdílem hmotností. Stanovení bylo provedeno třikrát vedle sebe.

Měření pH

Pomocí dvou tlumivých roztoků o pH 7 a pH 4 byl pH metr nakalibrován a poté bylo změřeno pH vzorku.

6 VÝSLEDKOVÁ ČÁST

Ve výsledkové části je uveden chronologický soupis jednotlivých experimentů probíhajících na elektrochemickém respirometru BI-2000 a respirometru MicroOxymax O₂/CO₂. Všechny uvedené protokoly testů obsahují veškerá naměřená data včetně nereprodukovatelných (označena šedě), která ale nejsou v diskusní části (kap.7) již uvedena ani matematicko-statisticky zpracována. Vzhledem k objemu výsledků jsou výsledková část a diskusní část odděleny.

V tabulkách a obrázcích níže je použita řada zkratk a symbolů, které jsou pro rychlou orientaci popsány již na tomto místě. Jejich úplný přehled je uveden v seznamu použitých symbolů a zkratk na konci práce.

Legenda:

Sl.p.	slepý pokus
B-Na	benzoan sodný
Glyc.	glycerin
Mer.	meritena 100 – přírodní škrob
Kap.	kaprolaktam
Anil.	anilin
Sušina _{poč}	sušina inokula na začátku měření [g/l]
Sušina _{kon}	sušina inokula na konci měření [g/l]
TSK	teoretická spotřeba kyslíku [mg/g]
t _{lag}	lagová fáze [h]
TOC _{poč}	veškerý organický uhlík na začátku měření [mg/l]
TOC _{kon}	veškerý organický uhlík na konci měření [mg/l]
D _{TOC}	procento odstranění substrátu podle úbytku organického uhlíku [%]
BSK _{max}	maximální hodnota biochemické spotřeby kyslíku [mg/g]
CHSK _{Cr}	chemická spotřeba kyslíku [mg/g]
rpm	rotate per minute (otáčky za minutu)
p.	pozice reakční nádoby
BM	pozice bez míchání reakční směsi

- BSK_{max} slepých pokusů je uváděna v mg/l.
- Hodnoty sušiny na začátku i na konci měření, veškerého organického uhlíku a pH u jednotlivých testů byly provedeny vždy u jednoho zástupce.
- Objem reakční suspenze u respirometru BI-2000 byl vždy 500 ml, u respirometru MicroOxymax byl 50 ml.
- V průběhu testování byl zaznamenán náznak rozdílných dat – hodnot BSK_c mezi jednotlivými moduly, proto jsou výsledky z modulů ve výsledkové části od sebe děleny.
- Šedě označená data v níže uvedených grafech jsou pro statistické zpracování vyloučena z důvodu neregulérních podmínek testu - výpadek míchání reakční suspenze nebo nefunkčnosti cely.
- Značení v legendě grafů: např.: sl.p. 1-2/3 značí slepý pokus v testu č. TN_1 - modul 2 a pozici reakční nádoby 3.

6.1 Výsledky testů s respirometrem BI-2000

Test č. TN_1 – Volba vhodné koncentrace substrátu

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Benzoan sodný** (B-Na)

Modul 1 pozice 1-8: 200 mg/l AK

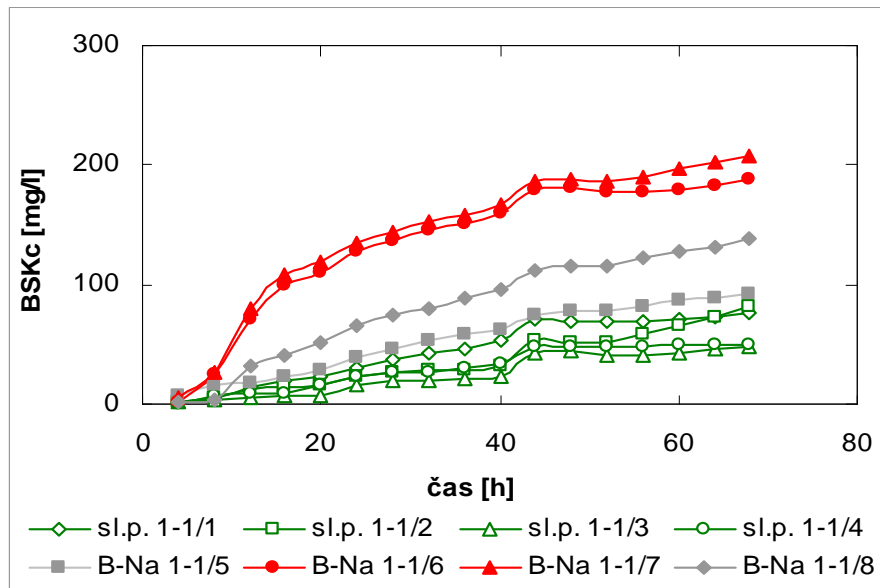
Modul 1 pozice 5-8: 100 mg/l B-Na

Modul 2 pozice 1-8: 200 mg/l AK

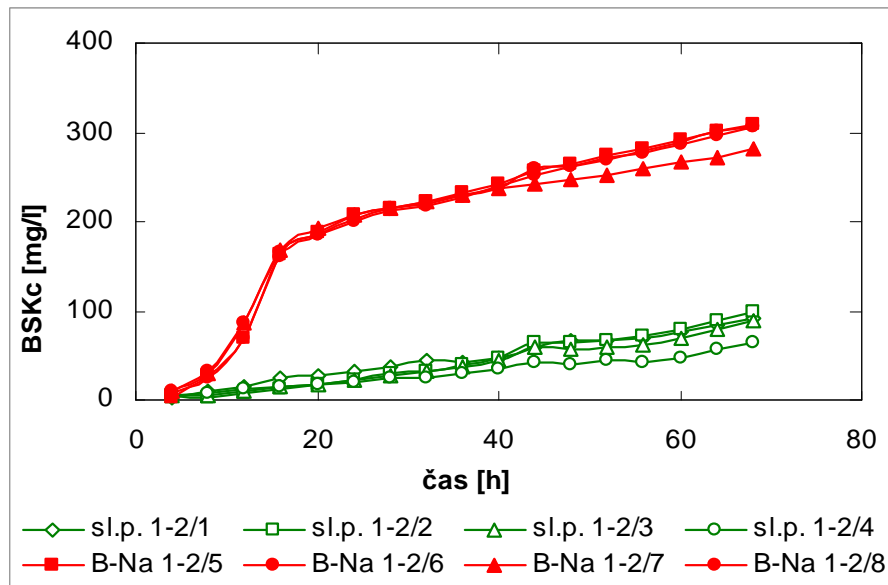
Modul 2 pozice 5-8: 200 mg/l B-Na

Tab. 2. Sledované parametry testu č. TN_1 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	B-Na	B-Na	B-Na	B-Na
Doba testu	[h]	68				68			
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,2				0,2			
TSK	[mg.g ⁻¹]	0				1609			
t _{lag}	[h]	<5				<5			
MODUL 1									
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	7,474				64,19			
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	9,047				14,82			
D _{TOC}	[%]	--	--	--	--	91,01			
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,362				0,490			
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	75,56	81,19	48,44	50,27	143,3	616,3	713,5	374,1
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	8,91	38,31	44,34	23,26
MODUL 2									
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	7,474				115,8			
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	9,047				23,07			
D _{TOC}	[%]	--	--	--	--	87,89			
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,362				0,409			
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	92,55	99,1	89,33	65	1113,4	1100,3	968,8	1094,6
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	69,2	68,38	60,21	68,03



Obr. 19. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného o koncentraci **100 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu



Obr. 20. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu

Test č. TN_2 – Vliv intenzity míchání na průběh celkové BSK I

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Benzoan sodný** (B-Na)

Modul 1 pozice 1-8: 200 mg/l AK

Modul 1 pozice 5-8: 200 mg/l B-Na

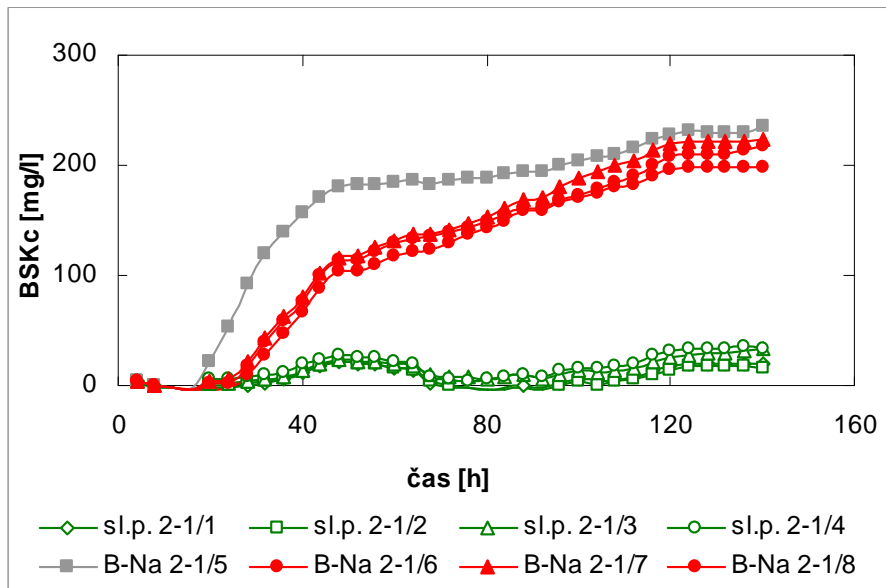
Modul 2 pozice 1-8: 200 mg/l AK

Modul 2 pozice 5-8: 200 mg/l B-Na

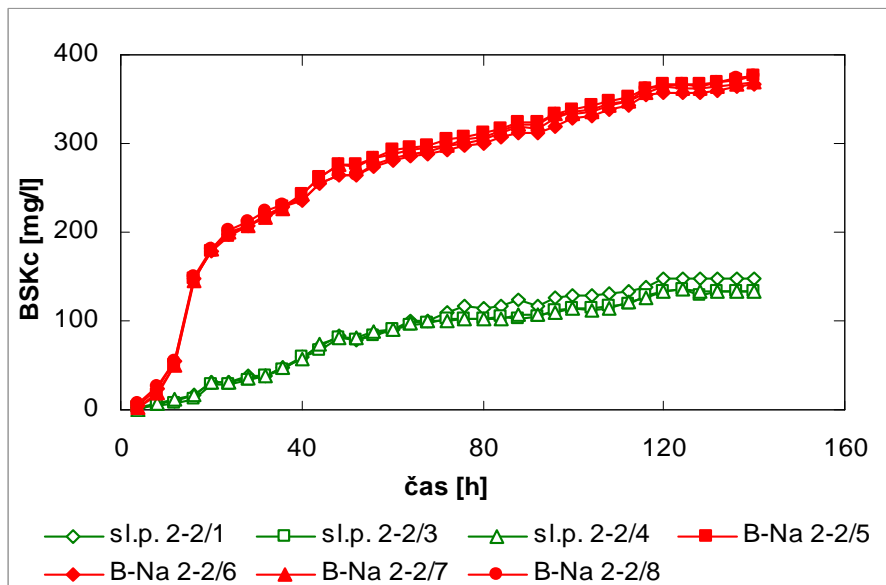
Modul 1 – **0 rpm (bez míchání)**Modul 2 – **400 rpm (maximální možné otáčky)**

Tab. 3. Sledované parametry testu č. TN_2 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	B-Na	B-Na	B-Na	B-Na
Doba testu	[h]	140				140			
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	6,094				131,4			
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,2				0,2			
TSK	[mg.g ⁻¹]	0				1609			
MODUL 1									
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	9,296				15,94			
D _{TOC}	[%]	--	--	--	--	94,94			
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,3307				0,32			
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	19,5	15,67	32,84	33,78	1051	862,1	987,7	961,7
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	70,91	53,58	61,39	59,77
t _{lag}	[h]	16				16			
MODUL 2									
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	8,242				13,51			
D _{TOC}	[%]	--	--	--	--	95,99			
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,325				0,238			
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	147,77	--	133,31	132,37	1187,8	1149,4	1160,5	1192
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	73,82	71,44	72,13	74,09
t _{lag}	[h]	<5				<5			



Obr. 21. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného za přítomnosti aktivovaného kalu – bez míchání **0 rpm**



Obr. 22. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného za přítomnosti aktivovaného kalu – s mícháním **400 rpm**

Test č. TN_3 – Vliv minerálního média na respiraci inokula

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Benzoan sodný** (B-Na)

Modul 1 pozice 1-6: 200 mg/l AK

Modul 1 pozice 4-6: 200 mg/l B-Na

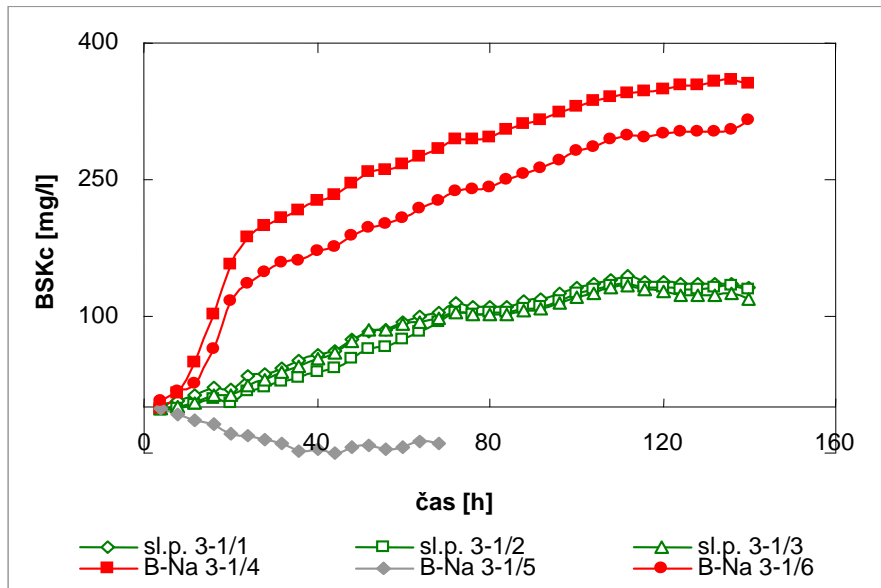
Modul 2 pozice 1-6: 200 mg/l AK

Modul 2 pozice 4-6: 200 mg/l B-Na

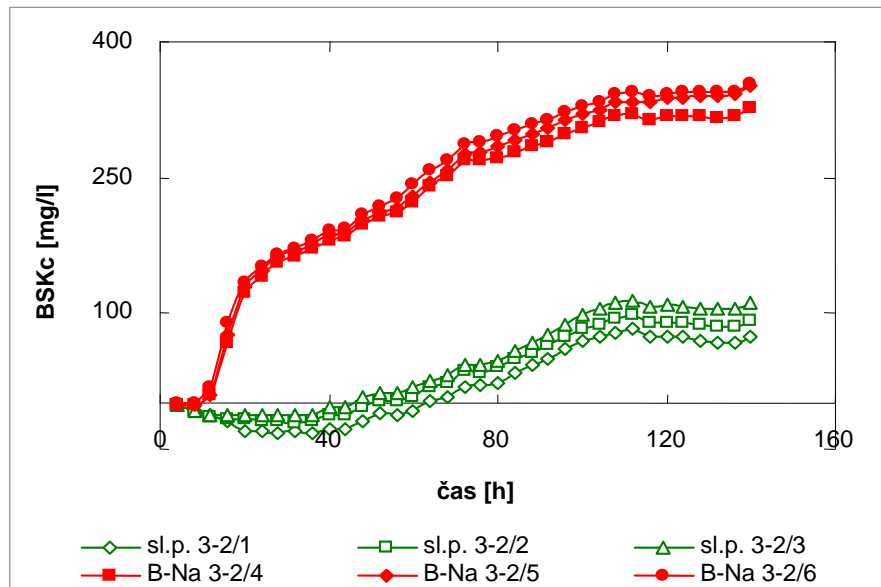
Modul 1 – **standardní** minerální médiumModul 2 – **dusičnanové** minerální médium

Tab. 4. Sledované parametry testu č. TN_3 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	B-Na	B-Na	B-Na
Doba testu	[h]	168			168		
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,2			0,2		
TSK	[mg.g ⁻¹]	0			1609		
t _{lag}	[h]	<5			<5		
MODUL 1							
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	9,732			104,5		
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	6,669			18,18		
D _{TOC}	[%]	--	--	--	88,99		
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	--			--		
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	131,25	129,03	119,88	1140,09	--	939,80
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	70,86	--	58,41
MODUL 2							
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	5,213			103,2		
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	7,26			13,86		
D _{TOC}	[%]	--	--	--	93,61		
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	--			--		
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	73,76	91,92	11,69	1166,05	1292,62	1298,32
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	72,47	80,34	80,69



Obr. 23. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného ve **standardním** minerálním médiu za přítomnosti aktivovaného kalu



Obr. 24. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného v **dušičnanovém** minerálním médiu za přítomnosti aktivovaného kalu

Test č. TN_5 – Stanovení biologické rozložitelnosti standardů I

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Benzoan sodný, glycerin** (B-Na, Glyc.)

Modul 1 pozice 1-8: 200 mg/l AK

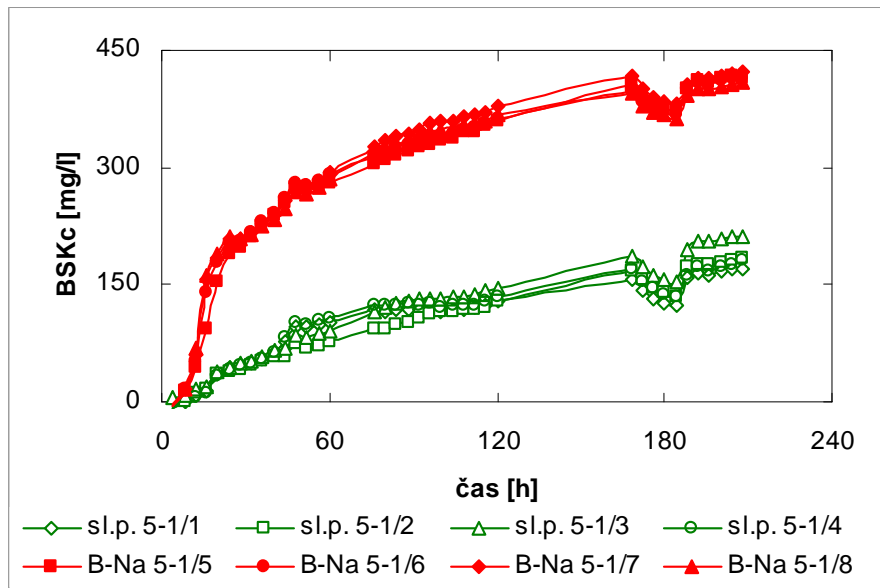
Modul 1 pozice 5-8: 200 mg/l B-Na

Modul 2 pozice 1-8: 200 mg/l AK

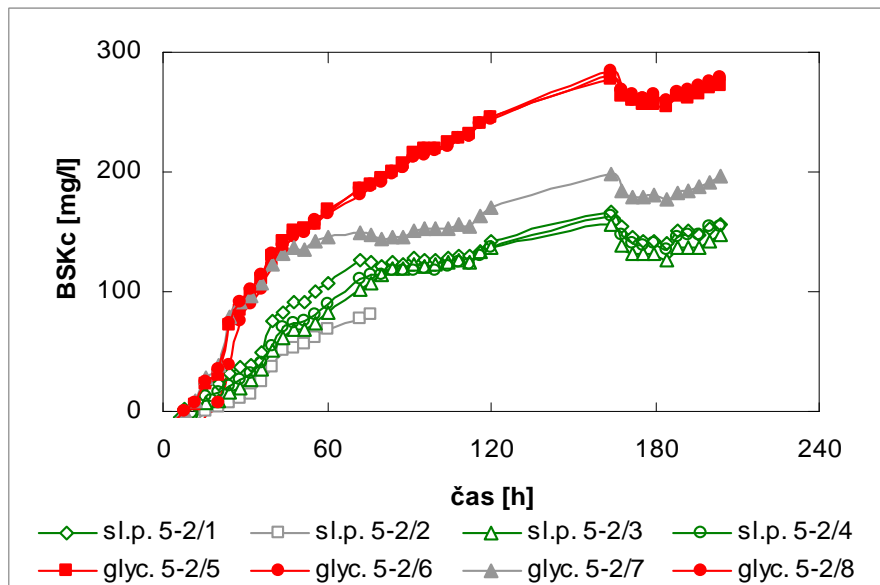
Modul 2 pozice 5-8: 200 mg/l Glyc.

Tab. 5. Sledované parametry testu č. TN_5 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	B-Na	B-Na	B-Na	B-Na
Doba testu	[h]	208				208			
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	7,89				102,7			
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	4,58				5,57			
D _{TOC}	[%]	--				99,04			
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,104				0,123			
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,153				0,307			
TSK	[mg.g ⁻¹]	0				1609			
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	169,5	183,42	212,63	180,13	1141,7	1137,7	1174,1	1104,2
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	70,96	70,71	72,97	68,63
t _{lag}	[h]	cca 5				cca 5			
Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Glyc.	Glyc.	Glyc.	Glyc.
Doba testu	[h]	208	76	204	204	204			
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	7,89				65,13			
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	4,58				6,95			
D _{TOC}	[%]	--				96,36			
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,104				0,123			
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,153				0,245			
TSK	[mg.g ⁻¹]	--				1216,16			
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	157,87	81,42	147,47	154,9	780,91	814,66	285,48	825,44
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	64,21	66,99	23,47	67,87
t _{lag}	[h]	cca 10				cca 10			



Obr. 25. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného** za přítomnosti aktivovaného kalu



Obr. 26. Průběh biologického rozkladu **glycerinu** za přítomnosti aktivovaného kalu

Test č. TN_6 – Ověření optimální koncentrace sušiny aktivovaného kalu I

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Modul 1 pozice 1-3: 30 mg/l AK

Modul 2 pozice 1: 200 mg/l AK

Modul 1 pozice 4-6: 150 mg/l AK

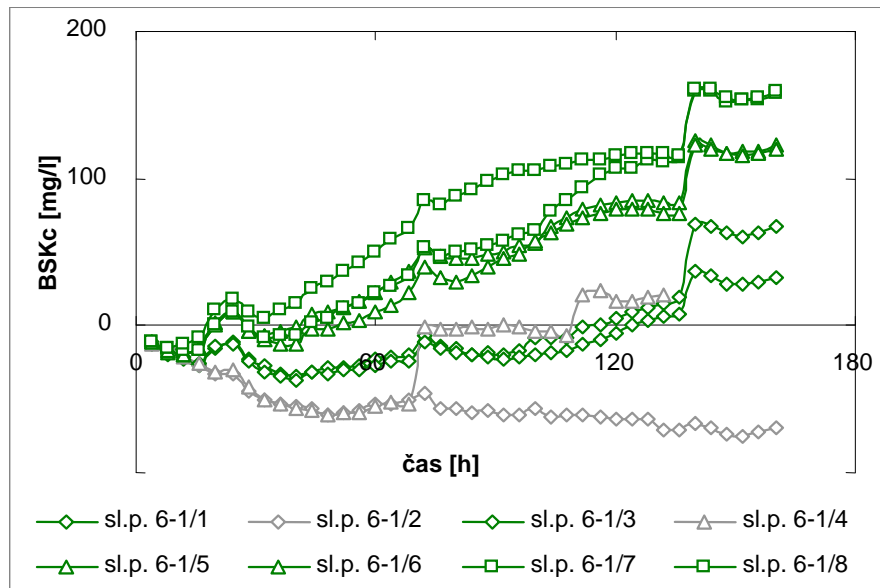
Modul 2 pozice 2-4: 250 mg/l AK

Modul 1 pozice 7-8: 200 mg/l AK

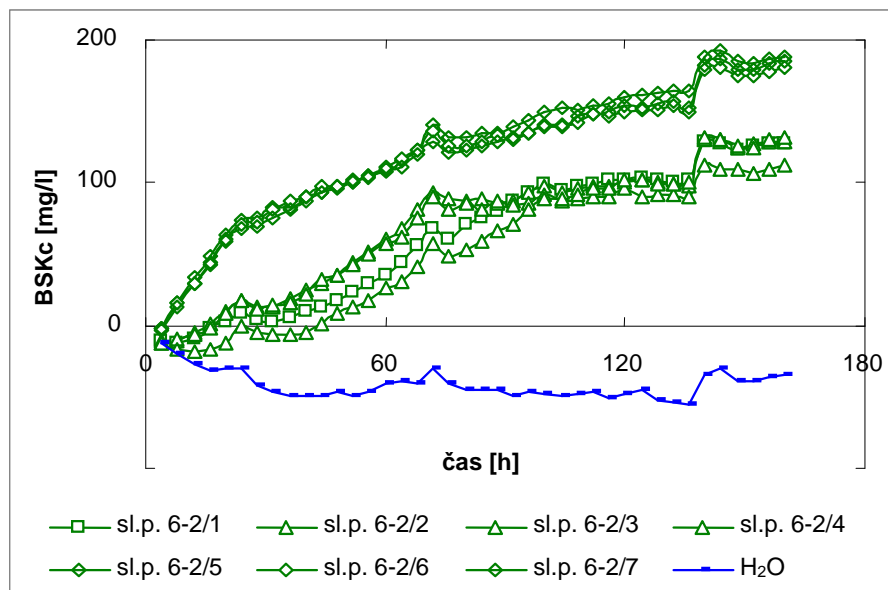
Modul 2 pozice 5-7: 500 mg/l AK

Tab.6. Sledované parametry testu č. TN_6 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		30	30	30	150	150	150	200	200
Doba testu	[h]	160			132	160		160	
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	5,157			8,905			10,77	
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	6,95			2,92			6,78	
pH _{kon.}	[g.l ⁻¹]	7,54			7,51			7,5	
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,03			0,15			0,2	
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	66,83	-70	32,19	20,29	122,18	120,34	157,3	159,11
t _{lag}	[h]	15			15			15	
Sledované parametry		200	250	250	250	500	500	500	H ₂ O
Doba testu	[h]	160	160			160			--
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	10,77	11,64			19,77			--
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	6,78	2,87			7,84			--
pH _{kon.}		7,5	7,49			7,47			--
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,2	0,25			0,5			--
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	127,6	129,33	112,75	131,76	188,69	179,99	184,69	--
t _{lag}	[h]	15	15			0		--	



Obr. 27. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentracích sušiny **30-200 mg/l**



Obr. 28. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentracích sušiny **200-500 mg/l**

Test č. TN_7 – Stanovení biologické rozložitelnosti standardů II

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Benzoan sodný, glycerin** (B-Na, Glyc.)

Modul 1 pozice 1-8: 200 mg/l AK

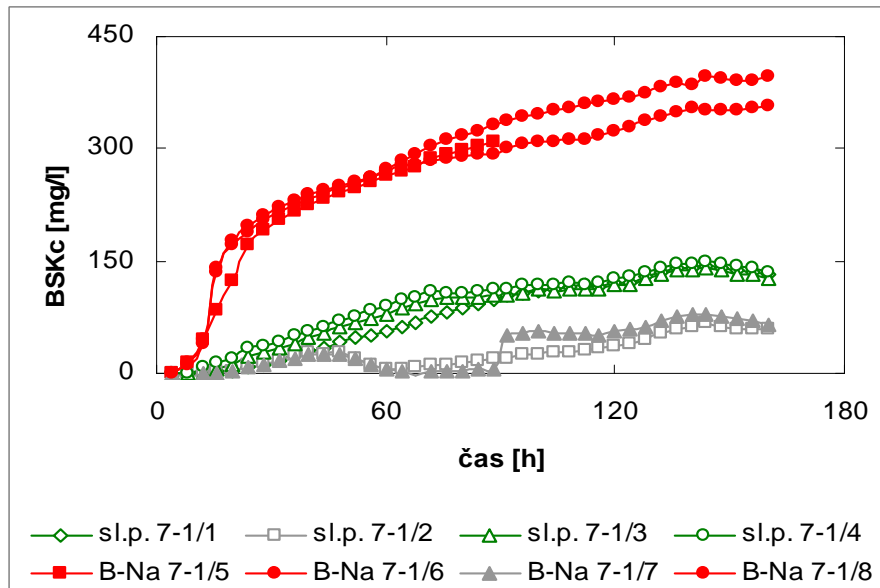
Modul 1 pozice 5-8: 200 mg/l B-Na

Modul 2 pozice 1-8: 200 mg/l AK

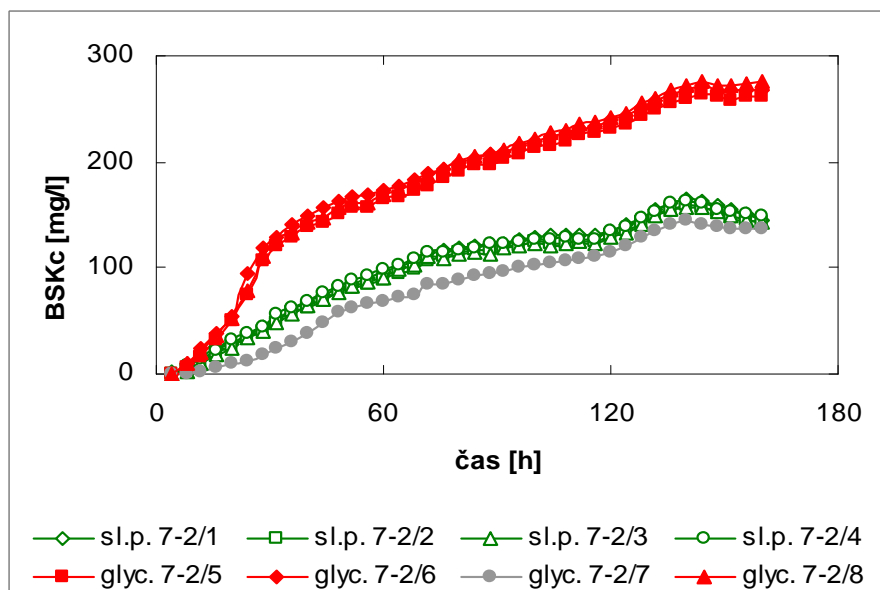
Modul 2 pozice 5-8: 200 mg/l Glyc.

Tab. 7. Sledované parametry testu č. TN_7 pro modul 1 (B-Na) a modul 2 (glycerin)

Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	B-Na	B-Na	B-Na	B-Na	
Doba testu	[h]	160				88	160			
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	5,625				118,7				
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	5,98				11,55				
D _{TOC}	[%]	--				95,31				
pH _{poč.}		7,46				7,45				
pH _{kon.}		6,62				6,69				
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,2213				0,1897				
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,176				0,319				
TSK	[mg.g ⁻¹]	0				1609				
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	130,95	59,6	126,8	135,33	1023,35	1125	--	1322,2	
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	63,60	69,92	--	82,17	
t _{lag}	[h]	cca 10				<8				
Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Glyc.	Glyc.	Glyc.	Glyc.	
Doba testu	[h]	160				160				
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	5,625				75,26				
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	5,98				8,946				
D _{TOC}	[%]	--				96,06				
pH _{poč.}		7,46				7,44				
pH _{kon.}		6,62				6,73				
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,2213				0,1897				
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,176				0,246				
TSK	[mg.g ⁻¹]	0				1216,16				
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	145,25	143,52	142,31	148,73	762,97	804,64	--	855,34	
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	62,74	66,16	--	70,33	
t _{lag}	[h]	<5				<5				



Obr. 29. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného** za přítomnosti aktivovaného kalu



Obr. 30. Průběh biologického rozkladu **glycerinu** za přítomnosti aktivovaného kalu

Test č. TN_8 – Volba vhodné doby vzorkování

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Meritena 100** (Mer.)

Modul 1 pozice 1-6: 200 mg/l – 6h. AK

Modul 1 pozice 4-6: 200 mg/l – 6h. Mer.

Modul 1 pozice 7-8: 200 mg/l – 4h. AK

Modul 2 pozice 4-6: 200 mg/l – 1h. Mer.

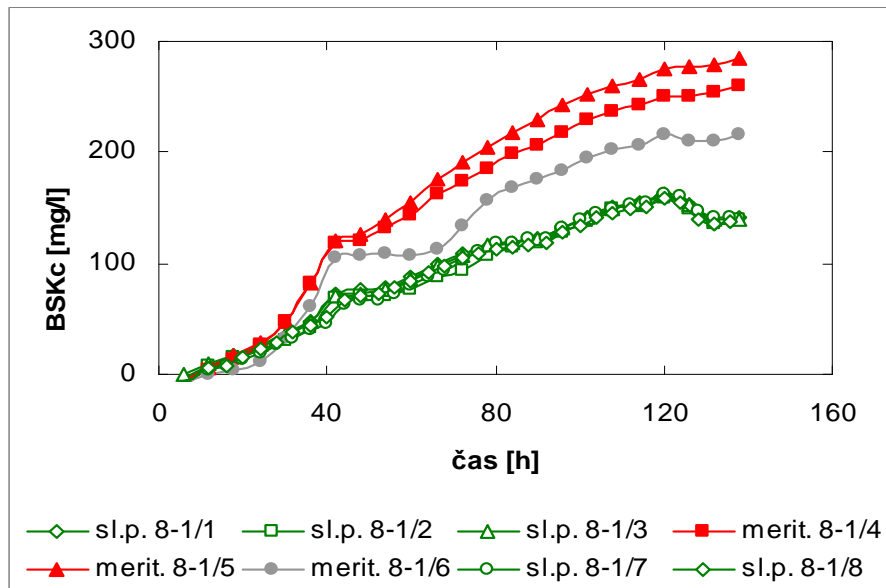
Modul 2 pozice 1-6: 200 mg/l – 1h. AK

Modul 2 pozice 7-8: 200 mg/l – 4h. Mer.

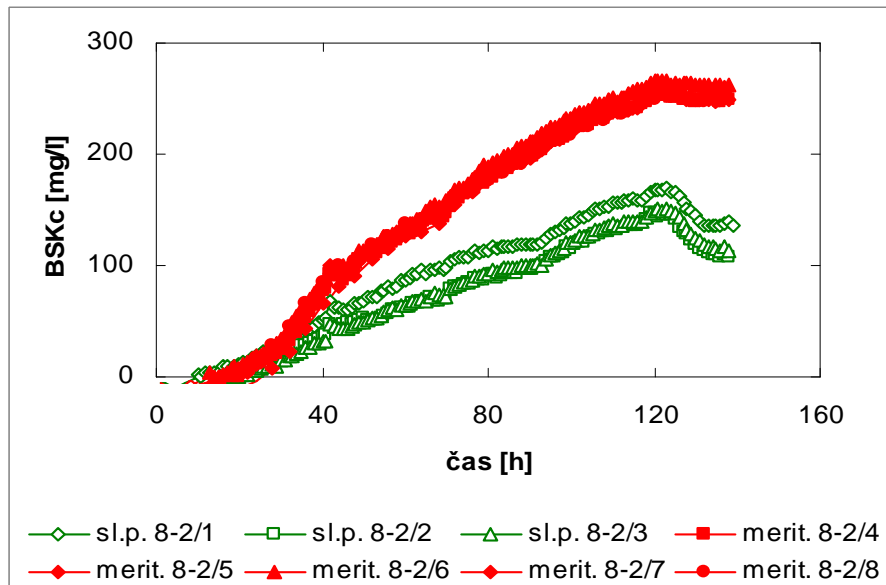
Modul 2 pozice 7-8: 200 mg/l – 4h. AK

Tab. 8. Sledované parametry testu č. TN_8 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.			Meritena 100				
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	--							
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	7,154			10,7				
D _{TOC}	[%]	--							
pH _{poč.}		7,48			7,47				
pH _{kon.}		6,62			6,72				
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,189			0,189				
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	--			0,229				
CHSK _{Cr}	[mg.g ⁻¹]	0			979				
MODUL 1									
Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Mer.	Mer.	Mer.	Sl.p.	Sl.p.
Doba testu	[h]	138			138			138	
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	141,5	139	139,2	607	676,8	387,5	141,1	137,8
BSK _{max} / CHSK _{Cr}	[%]	--	--	--	61,90	69,04	39,48	--	--
t _{lag}	[h]	<10			<10			<10	
MODUL 2									
Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Mer.	Mer.	Mer.	Mer.	Mer.
Doba testu	[h]	139	138		138			136	
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	135,1	106,8	112,5	642,3	628,7	690,8	626,9	639,2
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	64,9	63,6	69,9	63,7	64,96



Obr. 31. Průběh biologického rozkladu škrobu Meritena 100 za přítomnosti aktivovaného kalu – **modul 1**



Obr. 32. Průběh biologického rozkladu škrobu Meritena 100 za přítomnosti aktivovaného kalu – **modul 2**

Test č. TN_9 – Stanovení biologické rozložitelnosti dusíkatých standardů I

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Kaprolaktam** (Kap.)

Modul 1 pozice 1-8: 200 mg/l AK

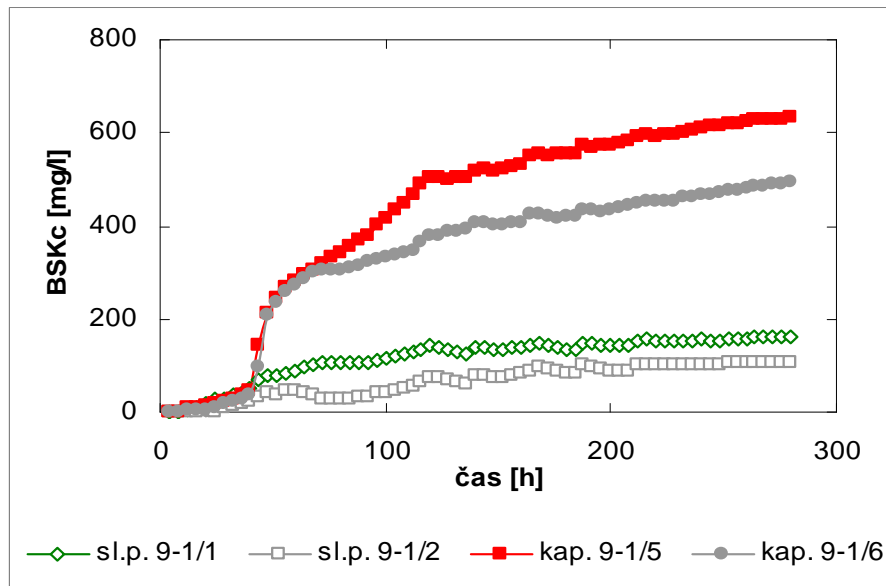
Modul 1 pozice 5-8: 200 mg/l Kap.

Modul 2 pozice 1-8: 200 mg/l AK

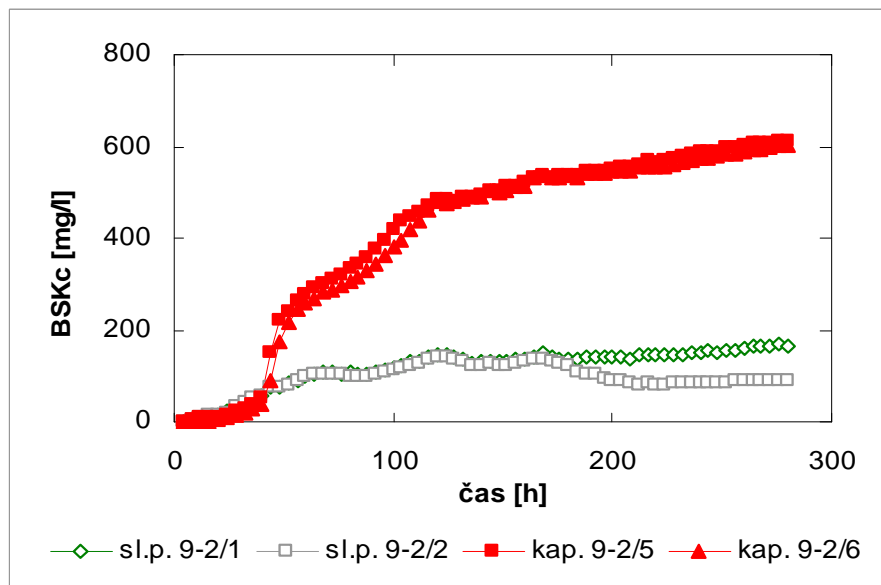
Modul 2 pozice 5-8: 200 mg/l Kap.

Tab. 9. Sledované parametry testu č. TN_9 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Kap.	Kap.
Doba testu	[h]	280		280	
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	5,703		142	
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	5,984		10,58	
D _{TOC}	[%]	--		96,76	
pH _{poč.}		7,48		7,42	
pH _{kon.}		6,66		6,09	
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,363		0,319	
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,141		0,431	
TSK	[mg.g ⁻¹]	0		2120,87	
t _{lag}	[h]	<5		<5	
MODUL 1					
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	160,03	105,21	1688,5	1440,03
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	79,61	67,90
MODUL 2					
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	164,44	88,49	1652,1	1503,03
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	77,90	70,87



Obr. 33. Průběh biologického rozkladu kaprolaktamu o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu



Obr. 34. Průběh biologického rozkladu kaprolaktamu o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu

Test č. TN_10 – Vliv teploty na průběh respirace

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Benzoan sodný, Meritena 100****(B-Na, Mer.)**

Modul 1 pozice 1-8: 200 mg/l AK

Modul 1 pozice 4-6: 200 mg/l B-Na

Modul 2 pozice 1-8: 200 mg/l AK

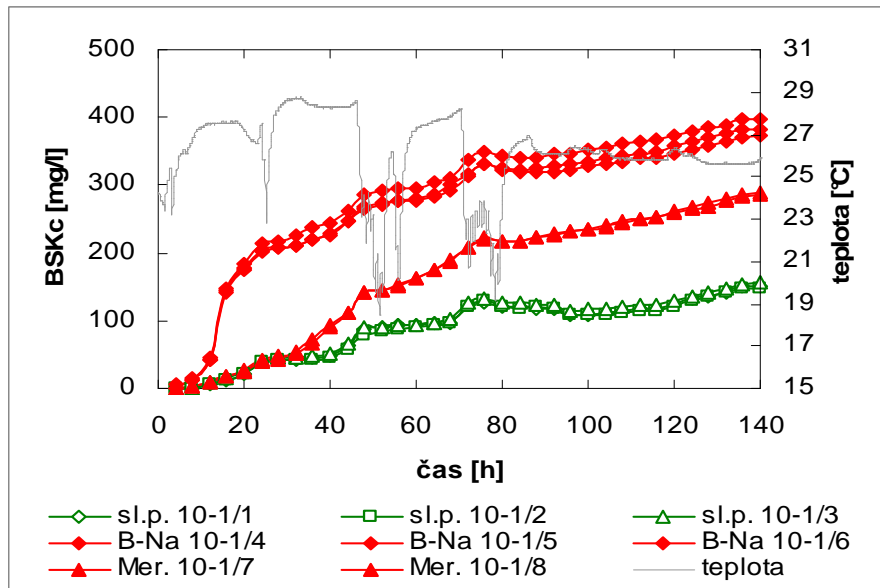
Modul 1 pozice 7-8: 200 mg/l Mer.

Modul 2 pozice 4-5: 200 mg/l B-Na

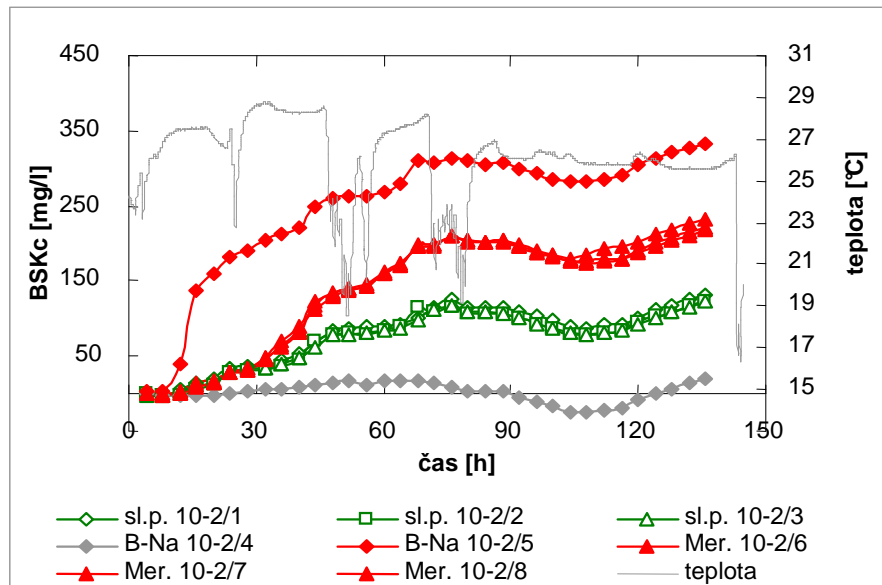
Modul 2 pozice 6-8: 200 mg/l Mer.

Tab. 10. Sledované parametry testu č. TN_10 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.	B-Na			Meritena 100			
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	6,424	124,5						
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	10,85	14,11			16,56			
D _{TOC}	[%]	--	97,38						
pH _{poč.}		7,51	7,51			7,49			
pH _{kon.}		6,63	7,09			6,71			
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,288	0,288			0,288			
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,235	0,218			0,211			
TSK (CHSK _{Cr})	[mg.g ⁻¹]	0	1609			979			
t _{lag}	[h]	<10	<10			<10			
MODUL 1									
Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	B-Na	B-Na	B-Na	Mer.	Mer.
Doba testu	[h]	140			140			140	
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	151,3	148,1	157,2	1106,5	1231,2	1152,4	654,9	666,7
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	68,77	76,52	71,62	66,89	68,10
MODUL 2									
Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	B-Na	B-Na	Mer.	Mer.	Mer.
Doba testu	[h]	136			136		136		
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	132,2	123,6	122,5	--	1029,6	460,75	451,44	520,4
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	63,99	47,06	46,11	53,16



Obr. 35. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného a Meriteny 100** za přítomnosti aktivovaného kalu



Obr. 36. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného a Meriteny 100** za přítomnosti aktivovaného kalu

Test č. TN_11 – Stanovení biologické rozložitelnosti dusíkatých standardů II

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Anilin** (Anil.)

Modul 1 pozice 1-8: 200 mg/l AK

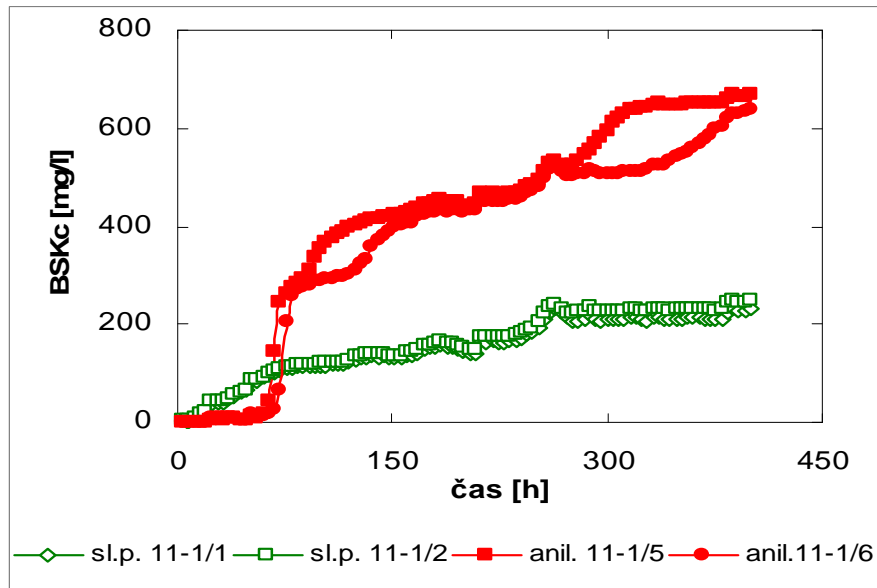
Modul 1 pozice 5-8: 200 mg/l Anil.

Modul 2 pozice 1-8: 200 mg/l AK

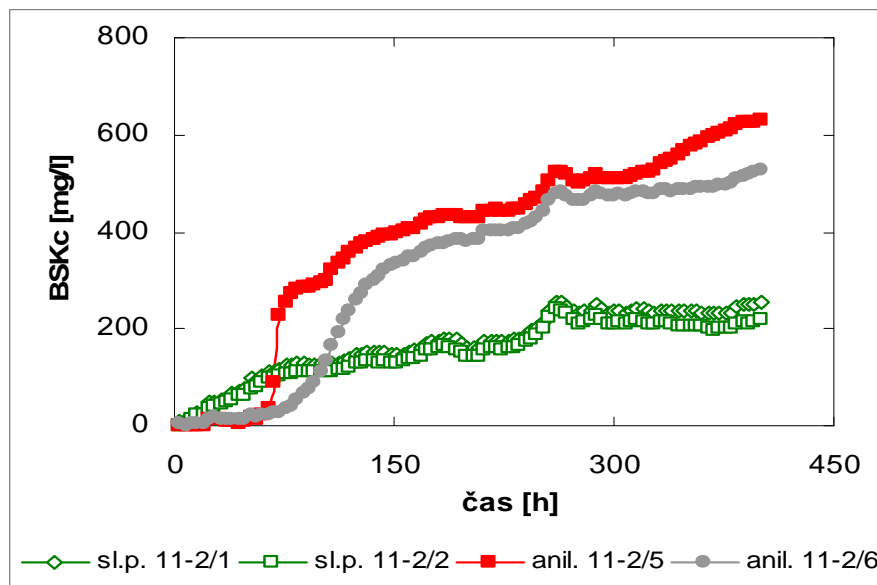
Modul 2 pozice 5-8: 200 mg/l Anil.

Tab.11. Sledované parametry testu č. TN_11 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Anilin	Anilin
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	8,12		180,5	
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	6,98		12,21	
D _{TOC}	[%]	--		97,1	
pH _{poč.}		7,46		7,49	
pH _{kon.}		6,56		6,30	
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,207		0,207	
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,154		0,147	
TSK	[mg.g ⁻¹]	0		2405,24	
t _{lag}	[h]	<5		20	
MODUL 1					
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	230,81	249,58	2121	1970,4
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	88,18	81,92
MODUL 2					
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	253,97	219,17	1955	1441,5
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	81,28	59,93



Obr. 37. Průběh biologického rozkladu anilinu o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu



Obr. 38. Průběh biologického rozkladu anilinu o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu

Test č. TN_12 – Vliv intenzity míchání na průběh celkové BSK II

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substrát: **Benzoan sodný** (B-Na)

Modul 1 pozice 1-8: 200 mg/l AK

Modul 1 pozice 5-8: 200 mg/l B-Na

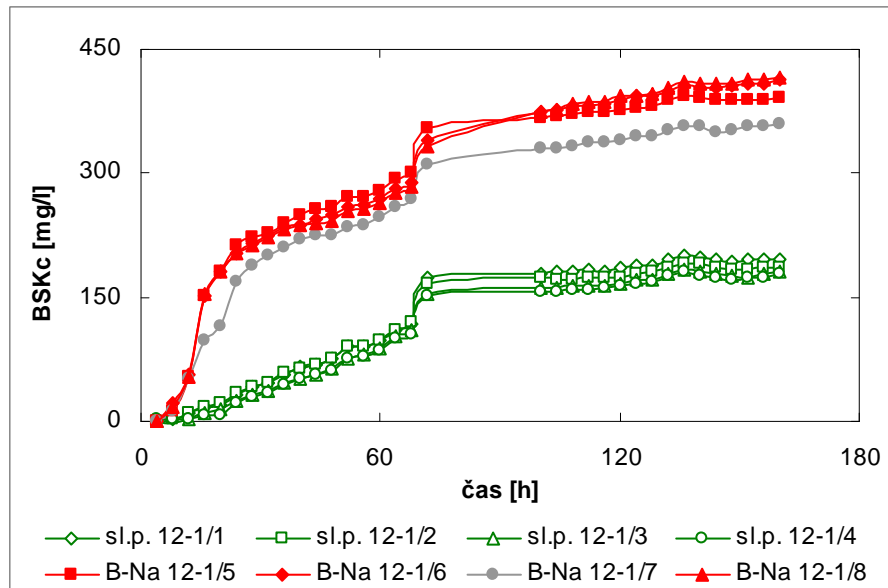
Modul 2 pozice 1-6: 200 mg/l AK

Modul 2 pozice 4-6: 200 mg/l B-Na

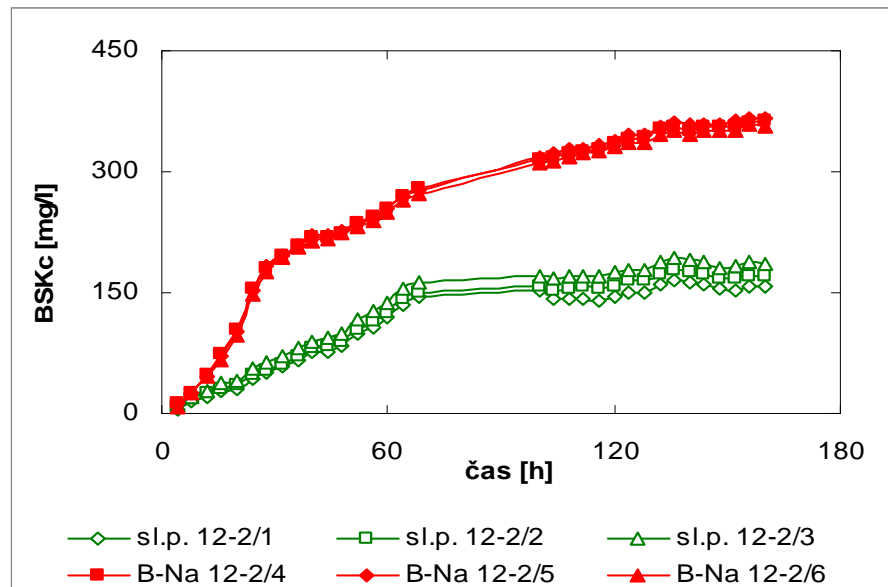
Modul 1: **400 rpm**Modul 2: **200 rpm**

Tab. 12. Sledované parametry testu č. TN_12 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	Sl.p.	B-Na	B-Na	B-Na	B-Na
Doba testu	[h]	160				160			
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]								
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]								
D _{TOC}	[%]								
pH _{poč.}		7,52				7,47			
pH _{kon.}		6,71				7,15			
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,104				0,248			
TSK	[mg.g ⁻¹]	0				1609			
MODUL 1									
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,132				0,119			
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	196,7	186,03	180,04	177,3	1025,9	1135,1	876,8	1151,1
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--	--	63,76	70,54	54,49	71,54
t _{lag}	[h]	<10				<10			
MODUL 2									
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,143				0,302			
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	158,05	171,4	185,6		959,95	972,64	922,77	
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	--		59,66	60,45	57,35	
t _{lag}	[h]	<5				<5			



Obr. 39. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného za přítomnosti aktivovaného kalu - s mícháním **400 rpm**



Obr. 40. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného za přítomnosti aktivovaného kalu - s mícháním **200 rpm**

Test č. TN_13 – Ověření optimální koncentrace sušiny aktivovaného kalu II

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Modul 1 pozice 1-2: 30 mg/l AK

Modul 2 pozice 3-5: 250 mg/l AK

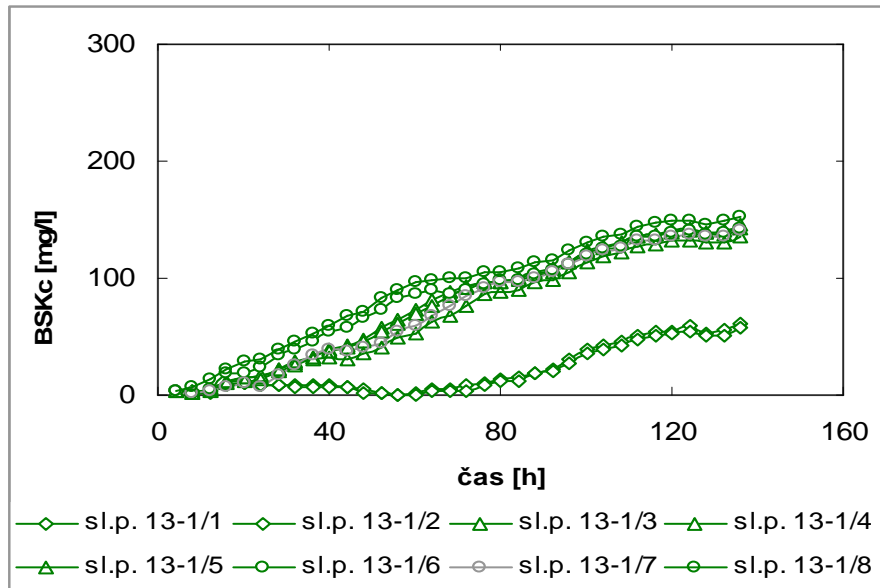
Modul 1 pozice 3-5: 150 mg/l AK

Modul 2 pozice 6-8: 500 mg/l AK

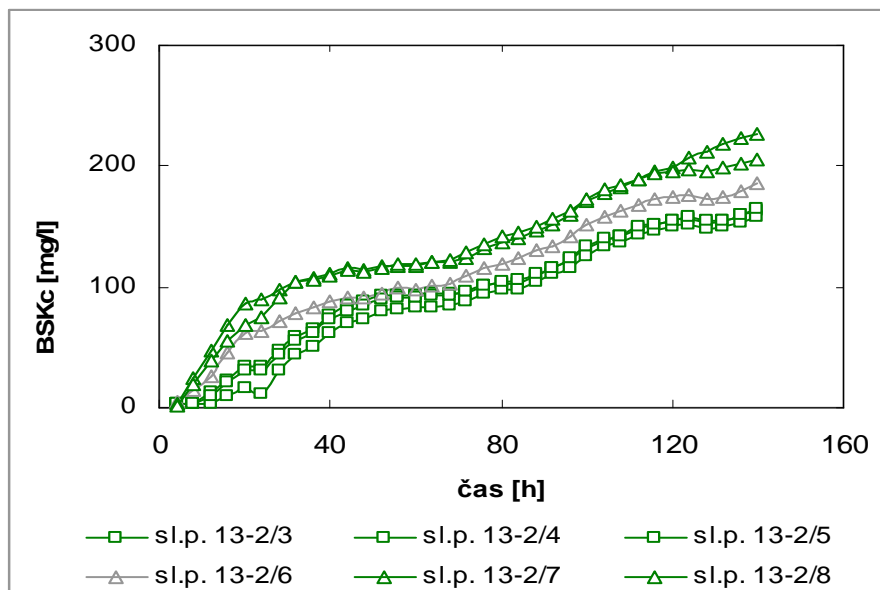
Modul 1 pozice 6-8: 200 mg/l AK

Tab. 13. Sledované parametry testu č. TN_13 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		30	30	150	150	150	200	200	200
Doba testu	[h]	136		136			136		
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]								
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]								
pH _{poč.}		7,53		7,52			7,53		
pH _{kon.}	[g.l ⁻¹]	7,08		6,84			6,82		
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,027		0,15			0,189		
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,178		0,149			0,141		
BSK _{max}	[mg.g ⁻]	60,87	57,02	144,92	142,87	136,4	142,6	141,04	152,75
t _{lag}	[h]	<5		<5			<5		
Sledované parametry		250	250	250	500	500	500		
Doba testu	[h]	140			140				
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]								
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]								
pH _{poč.}		7,53			7,51				
pH _{kon.}		6,82			6,74				
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,241			0,451				
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	--			0,223				
BSK _{max}	[mg.g ⁻]	163,29	158,28	164,28	185,15	226,38	206,03		
t _{lag}	[h]	<5			<5				



Obr. 41. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentracích sušiny 30-200 mg/l



Obr. 42. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentracích sušiny 250-500 mg/l

Test č. TN_14 – Stanovení biologické rozložitelnosti neznámého reálného vzorku

Inokulum: Aktivovaný kal (AK)

Substráty: **Benzoan sodný, vzorky****Moraprim (B-Na, M.)**

Modul 1 pozice 1-8: 200 mg/l AK

Modul 1 pozice 3-4: 200 mg/l B-Na

Modul 2 pozice 1-8: 200 mg/l AK

Modul 1 pozice 5-8: 200 mg/l M.

Allythiomočovina: Modul 1 pozice 1-8: 10 mg/l

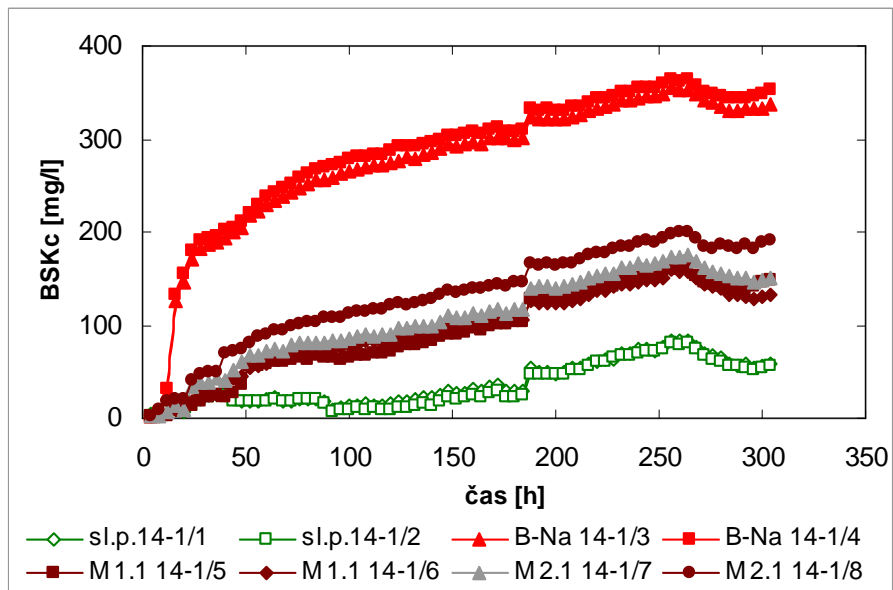
Modul 2 pozice 3-4: 200 mg/l B-Na

Modul 2 pozice 1-8: 10 mg/l

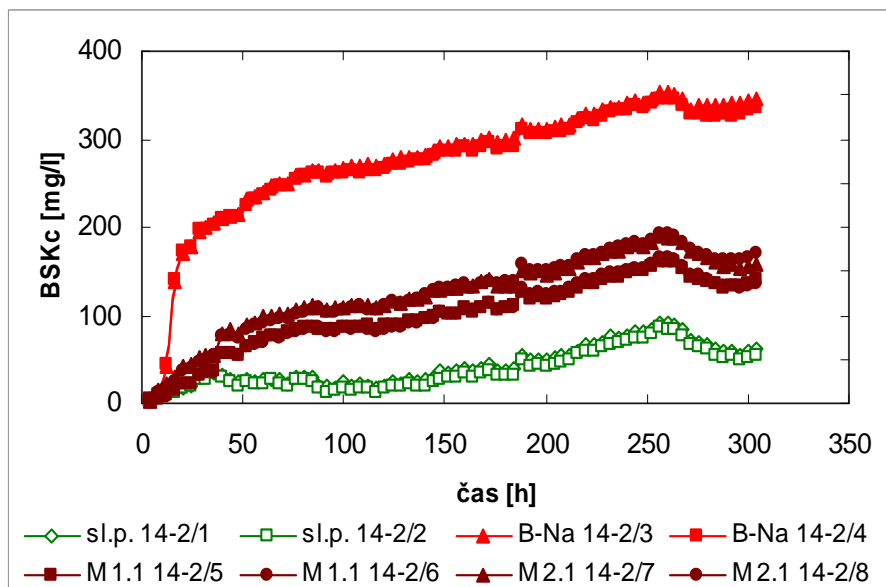
Modul 2 pozice 5-8: 200 mg/l M.

Tab. 14. Sledované parametry testu č. TN_14 pro modul 1 a modul 2

Sledované parametry		Sl.p.	Sl.p.	B-Na	B-Na	M 1.1	M 1.1	M 2.1	M 2.1
Doba testu	[h]	304	304	304	304	304	304	304	304
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	8,4	111,9	36,92	37,88				
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	14,39	21,98	21,83	19,16				
D _{TOC}	[%]	--	93,22	79,85	87,41				
pH _{poč.}		7,53	7,52	7,49	7,49				
pH _{kon.}		7,58	7,88	7,68	7,67				
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,241	0,229	0,239	0,239				
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,218	0,2097	0,118	0,158				
TSK	[mg.g ⁻¹]	0	1609	--	--				
t _{lag}	[h]	<5	<5	<5	<5				
MODUL 1									
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	58,34	56,1	1401,6	1473,7	449,7	379,1	468,7	673,3
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	87,11	91,59	--	--	--	--
MODUL 2									
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	62,33	54,7	1434,3	1389,6	406,9	383,5	499,8	553
BSK _{max} / TSK	[%]	--	--	89,14	86,36	--	--	--	--



Obr. 43. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného a reálného vzorku** za přítomnosti aktivovaného kalu



Obr. 44. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného a reálného vzorku** za přítomnosti aktivovaného kalu

6.2 Výsledky testů s respirometrem Micro-Oxymax

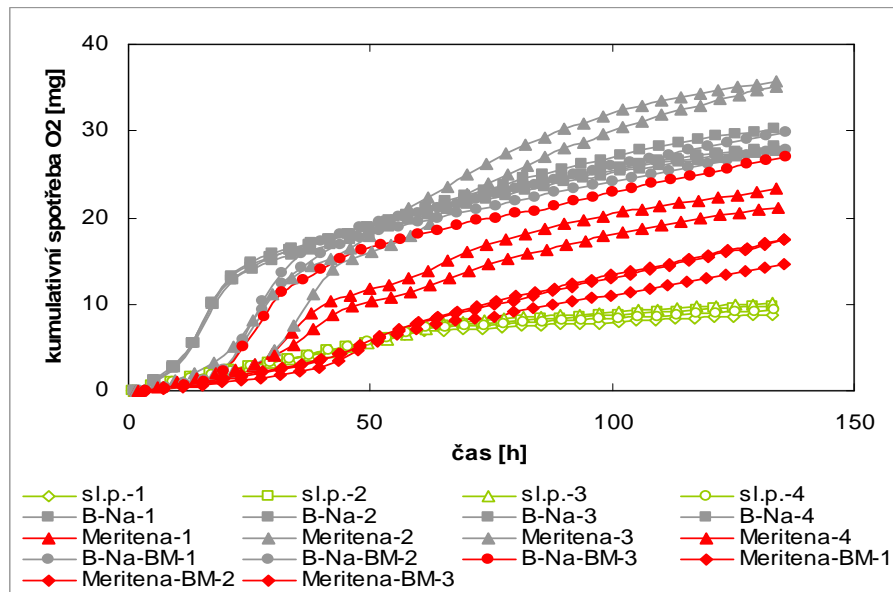
Test COLUMBUS_TN_1

Inokulum:	koncentrace v reaktoru – 200 mg/l aktivovaný kal - pozice: 1-4 slepý pokus
Substrát:	koncentrace v reaktoru – 200 mg/l Benzoan sodný - pozice: 5-8 (míchání 300 rpm) - pozice: 28 -30 (bez míchání – BM) Meritena 100 - pozice: 9-12 (míchání 300 rpm) - pozice: 25 -27 (bez míchání – BM) Glycerin - pozice: 13-16 Kapolaktam - pozice: 17-20 Anilin - pozice: 21-24

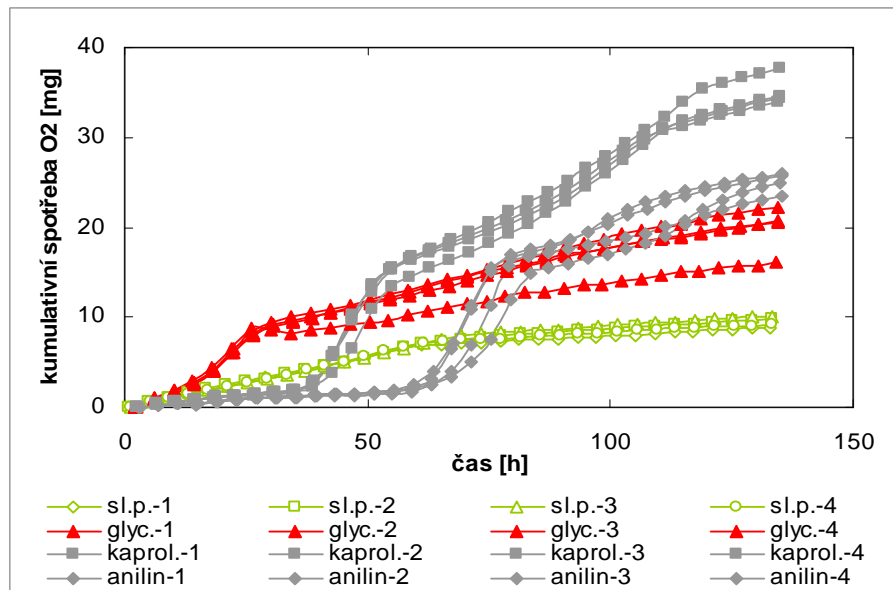
Tab. 15. Sledované parametry testu COLUMBUS_TN_1

Sledované parametry		p.1	p.2	p.3	p.4	p.9	p.12
Doba testu	[h]	133,05	133,15	133,25	133,35	133,85	134,16
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	5,586					
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	7,229				14,36	
D _{TOC}	[%]	--					
pH _{poč.}		7,52				7,48	
pH _{kon.}		6,61				6,66	
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,2				0,2	
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,308				0,204	
CHSK _{Cr}	[mg.g ⁻¹]	--				979	
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	--	--	--	--	701,9	593,2
BSK _{max} /TSK	[%]	--	--	--	--	71,69	60,6

Sledované parametry		p.13	p.14	p.15	p.16	p.25	p.26	p.27	p.30
Doba testu	[h]	134,26	134,36	134,46	134,56	135,47	135,57	135,67	135,97
TOC _{poč.}	[mg.l ⁻¹]	80,1							144,8
TOC _{kon.}	[mg.l ⁻¹]	7,47				14,36			15,5
D _{TOC}	[%]	99,70							94,29
pH _{poč.}		7,46				7,48			7,48
pH _{kon.}		6,66				6,66			7,10
Sušina _{poč.}	[g.l ⁻¹]	0,2				0,2			0,2
Sušina _{kon.}	[g.l ⁻¹]	0,065				0,204			0,257
TSK (CHSK _{Cr})	[mg.g ⁻¹]	1216,16				979			1609
BSK _{max}	[mg.g ⁻¹]	438,84	843,6	739,21	730,87	261,42	401,16	407,67	887,88
BSK _{max} /TSK	[%]	36,08	69,37	60,78	60,10	26,70	40,98	41,64	90,69



Obr. 45. Průběh biologického rozkladu substrátů o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu



Obr. 46. Průběh biologického rozkladu substrátů o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu

* šedě označená data byla vyloučena – v průběhu měření došlo k překročení měřicího rozsahu kyslíkového detektoru.

7 DISKUSNÍ ČÁST

Z literární studie vyplývá, že biodegradační procesy jsou obvykle popisovány matematickým modelem prvního řádu. Jestliže je biodegradace považována za reakci prvního řádu, pak je rychlost biodegradace úměrná koncentraci testovaného substrátu [25]:

$$v = -\frac{dS}{dt} = -k_1 \cdot S. \quad /9/$$

Kde S je koncentrace testovaného substrátu, t je čas (den), k_1 je rychlostní konstanta prvního řádu (den^{-1}) a v je rychlost úbytku testované látky (rychlost biodegradace).

Transformace této rovnice vede k:

$$S_{rem}(t) = S_{init} e^{-k_1 t} \quad /10/$$

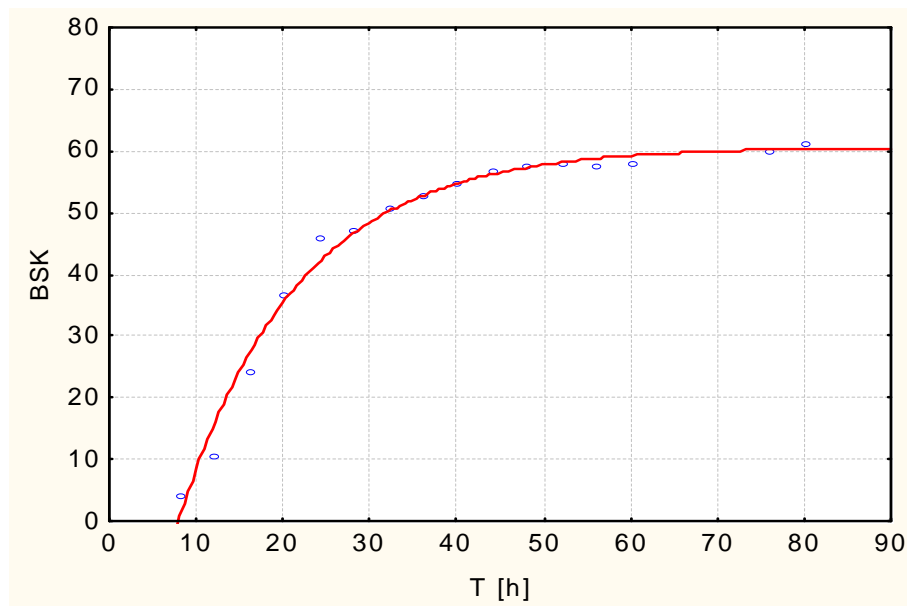
Kde S_{rem} je zbylá koncentrace testované látky a S_{init} je její počáteční koncentrace.

Larson a Perry [26], Larson [27] Srinivasan a Viraraghavan [28] použili kinetiku prvního řádu ke stanovení rychlosti spotřeby kyslíku a tvorby CO_2 užitím následujícího nelineárního modelu:

$$y = \begin{cases} 0 & \text{pro } x \leq c \\ a(1 - e^{-k_1(t-c)}) & \text{pro } x > c \end{cases} \quad /11/$$

Kde y je chemická spotřeba kyslíku resp. tvorba CO_2 (procentuální), t je čas (den), a je asymptota křivky, k_1 je rychlostní konstanta prvního řádu (den^{-1}) a c je lagová fáze (den).

Vzhledem ke skutečnosti, že průběhy biologických rozkladů zvolených modelových látek odpovídaly modelu kinetiky prvního řádu /11/, byla v prvním kroku všechna reprodukovatelná data zpracována pomocí rovnice /11/. Na obrázku 47 je ukázán příklad takového zpracování naměřených dat z testu č. TN_5: B-Na 4-1/5

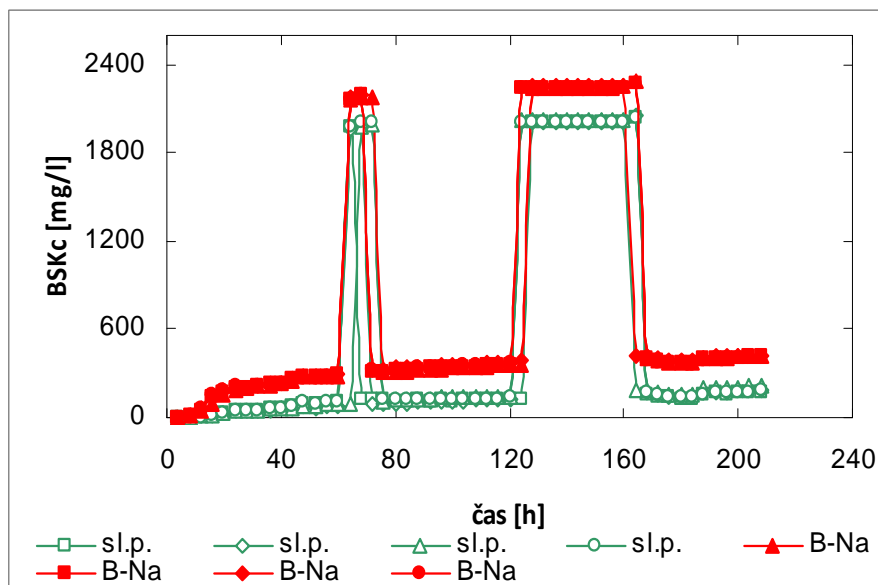


Obr. 47. Kinetické zpracování testu TN_5

Jedním z původních záměrů celé diplomové práce bylo provést validaci/verifikaci respirometru BI-2000. Vzhledem k neočekávaným problémům s přístrojem, které nastaly v průběhu diplomové práce, bylo nutno tento záměr přehodnotit a zaměřit se nejdříve na zprovoznění přístroje a vytipování vhodných podmínek měření. Původně zamýšlenou validaci/verifikaci už nebylo možné z časových důvodů provést.

7.1 Rekalibrace měřicího rozsahu tlakových senzorů

V průběhu prvních experimentů byla zaznamenána chyba v naměřených datech v podobě nereálných hodnot biochemické spotřeby kyslíku (obr. 48). Toto chybné hlášení se objevovalo pokaždé, když atmosférický tlak poklesl pod 960 hPa. Po konzultaci se servisním střediskem fmy. Bioscience USA byla provedena tzv. rekalibrace rozsahu tlakových senzorů.



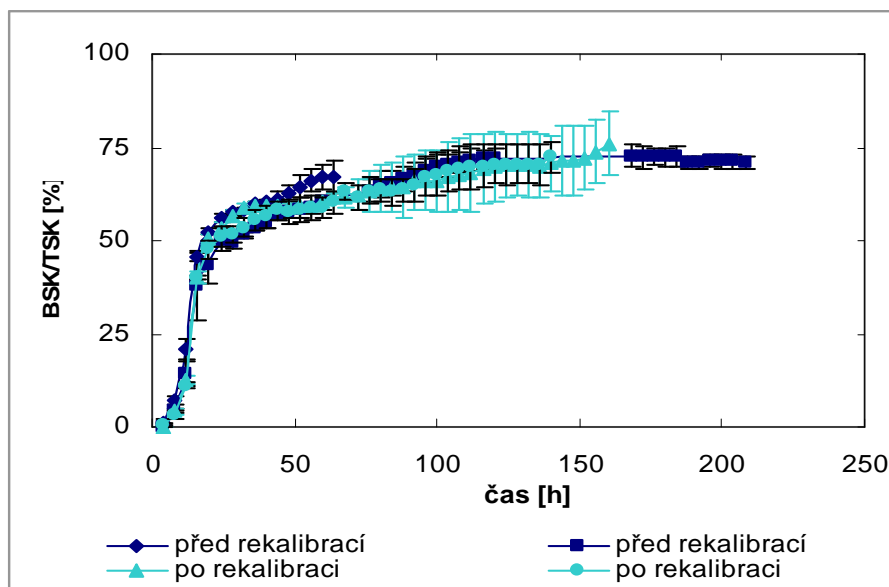
Obr. 48. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného s chybovým hlášením nereálných hodnot BSK

Rekalibrace byla provedena ve dvou krocích. V první fázi byl manuálně nastaven vyšší rozsah tlakových čidel umístěných na zadní straně reakčních modulů. Zvýšení bylo provedeno o 20 mm Hg. V další fázi byla změněna tzv. atmosférická konstanta a to z původně doporučené hodnoty 9,53 (přepočítávací koeficient vhodný pro nadmořskou výšku nižší jak 300 m.n.m.) na hodnotu 9,21 [20].

Jednalo se o poměrně razantní zásah do systému v průběhu již rozplánovaného harmonogramu experimentů. Z tohoto důvodu byl tento zásah do systému analyzován pomocí analýzy rozptylu (ANOVA). Anova se používá v situacích, kdy nás zajímá vliv jedné nebo více nominálních proměnných, tzv. faktorů, na kvantitativní proměnnou. Zkoumáme-li závislost pouze na jednom faktoru, potom hovoříme o jednofaktorové analýze rozptylu [30].

Výsledkem analýzy rozptylu je hodnota hladiny významnosti (p). Vypočtená p -hodnota je využita k rozhodnutí, zda je efekt daného faktoru významný či ne. Za významné se považují faktory, jejichž p -hodnota je nižší než 0,05.

Na obrázku 49 je ukázán průběh biologického rozkladu benzoanu sodného před a po rekalibraci. Z obrázku a následujícího textu vyplynulo, že jednotlivé průběhy byly v rámci chyby měření, takže byly potvrzeny výsledky anovy, že rekalibrace neovlivnila naměřená data.

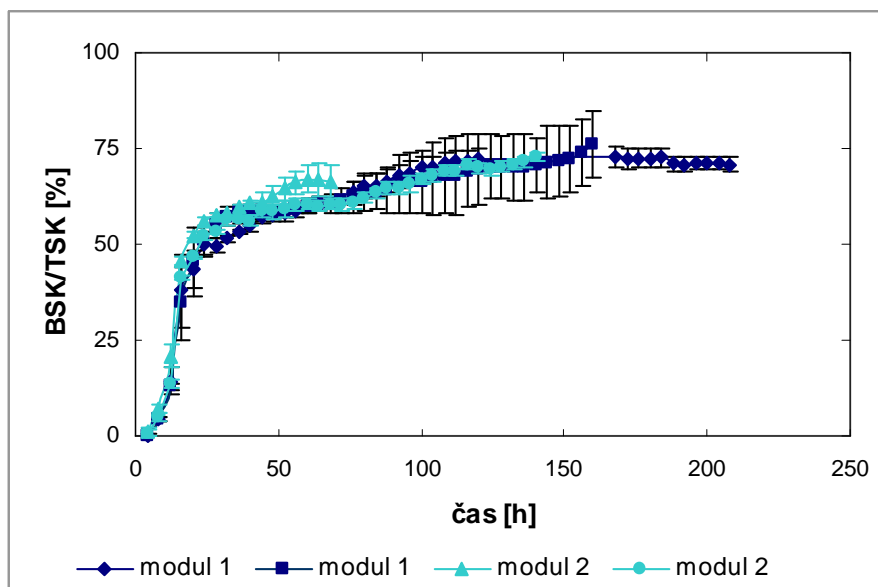


Obr. 49. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného před a po recalibraci měřícího rozsahu tlakových senzorů

V tomto případě byla pro anovu jako faktor zvolena recalibrace tlakových senzorů a analyzován byl její vliv na hodnoty BSK_{max} , rychlostní konstantu a lagovou fázi. Výsledkem těchto analýz byly p-hodnoty rovny 0,48 (BSK_{max}), 0,45 (k) a 0,97 (t_{lag}). Tím je dokázáno, že recalibrace měřícího rozsahu tlakových senzorů neovlivnila naměřené hodnoty.

7.2 Reakční moduly

Vzhledem ke skutečnosti, že každá jednotka respirometru BI-2000 – modul, má vlastní tlakový senzor a k faktu, že citlivost korektoru rozsahu tlakového senzoru je velmi vysoká, nebyl rozsah nastaven u obou modulů identicky. Pro posouzení, zda jednotlivé reakční moduly nepracují odlišně, byl využit Wilcoxonův párový test na hladině významnosti $p = 0,05$ [31]. Výsledkem testu byla p-hodnota rovna 0,26. Test neprokázal, že by jednotlivé reakční moduly měly vliv na naměřená data. Reakční moduly tedy pracovaly v rámci chyby, což je patrné i z obrázku 49 znázorňujícího průběh biologického rozkladu benzoanu sodného v jednotlivých reakčních modulech.

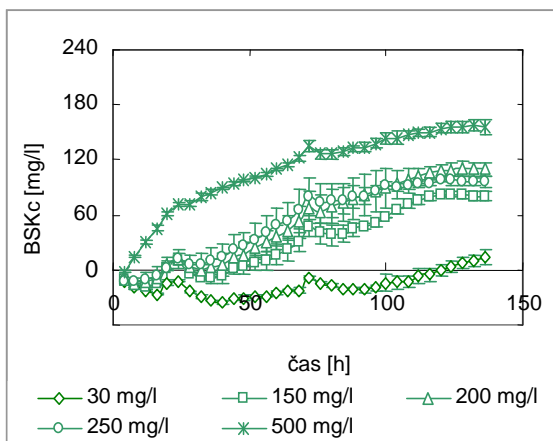


Obr. 50. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného v jednotlivých reakčních modulech

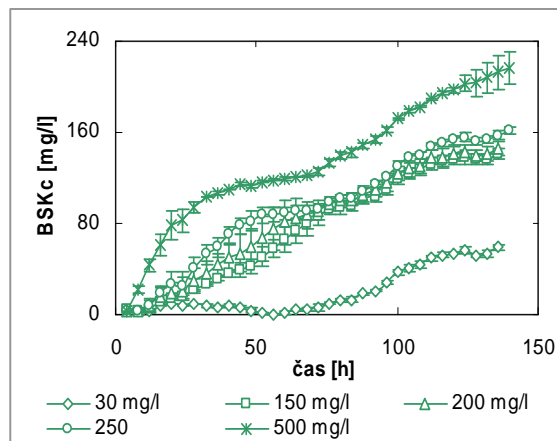
7.3 Návrh vhodné sušiny kalu

Dávkování aktivovaného kalu je v normách udáváno v rozmezí od 30 mg/l až po 1000 mg/l. Při stanovení BSK v uzavřených respirometrech (BIAL BOD, Micro-Oxymax O_2/CO_2) se na UIOZP osvědčily koncentrace sušiny v rozmezí 30-500 mg/l (nebyl většinou překročen měřicí rozsah přístroje). V uvedeném rozsahu byly proto voleny koncentrace aktivovaného kalu při návrhu podmínek měření s respirometrem BI-2000. Byly provedeny dva na sobě nezávislé testy v časovém odstupu cca 3 měsíce, test č. TN_6 a test č. TN_13 pouze jako respirační testy bez přídatku substrátu.

Průběh endogenní respirace byl při nízkých hodnotách sušiny kalu (30 mg/l) nereprodukovatelný a většinu času v záporných hodnotách – pod mezí detekce přístroje (obrázek 51). Vhodné dávkování aktivovaného kalu bylo 200-250 mg/l, pro další testy byla používána sušina kalu 200 mg/l.



Obr. 51. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentraci sušiny 30-500 mg/l



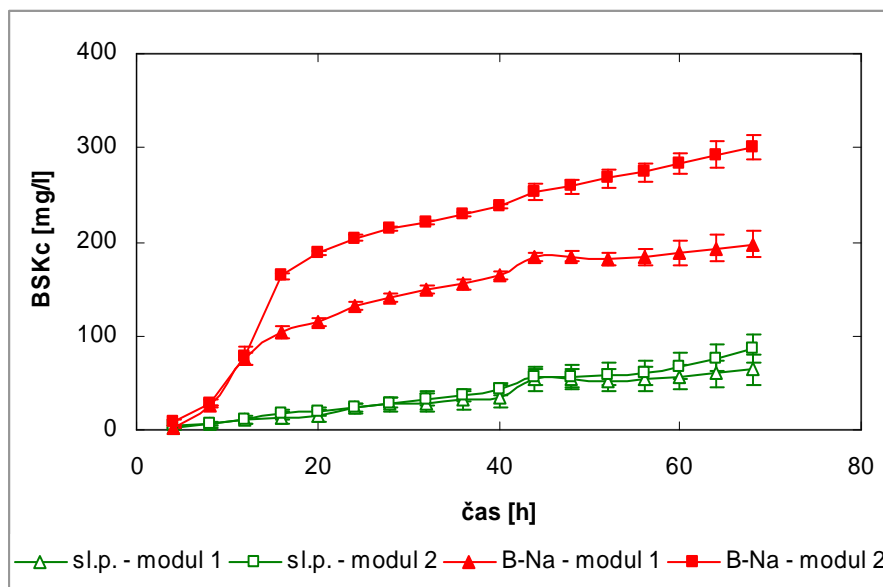
Obr. 52. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentraci sušiny 30-500 mg/l

7.4 Odhad minimální koncentrace substrátu

Před zahájením celé série experimentů bylo nutno nejprve navrhnout minimální koncentraci dobře rozložitelného substrátu v reaktoru. Tato koncentrace měla být taková, aby výsledná hodnota biologické spotřeby kyslíku byla výrazně vyšší než hodnota endogenní respirace (minimálně 3*) a tudíž nezanikla v rámci „šumu“ (respirace samotného AK). Příliš vysoká by naopak mohla vést k rychlému vyčerpání elektrolytu, jehož výměna či doplnění by mohla vést k netěsnosti cely, která se již v průběhu testu nedá ověřit.

Stanovení bylo provedeno v testu č. TN_1. Při vlastním sestavování přístroje již byly odzkoušeny různé koncentrace a proto byly v tomto případě navrženy pouze dvě hodnoty: 100 mg/l a 200 mg/l.

Na obrázku 53 je zaznamenán průběh biologického rozkladu benzoanu sodného při těchto koncentracích 100 mg/l a 200 mg/l. Z diference slepých pokusů (endogenní respirace) a vlastních testů se lépe jevílo vyšší použité dávkování substrátu. Při testování s hůře biologicky odbouratelných substrátů by jejich nízká koncentrace mohla vést k malým rozdílům mezi celkovou a endogenní respirací; naměřené hodnoty substrátové BSK by pak byly zatíženy velkou chybou. Další testy byly prováděny při koncentracích substrátů 200 mg/l.



Obr. 53. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného o dvou různých koncentracích

Jestliže se hodnoty BSK pohybovaly okolo 300-500 mg/l nebylo nutno v průběhu měření obnovovat elektrolyt.

7.5 Vliv míchání a teploty na průběh biologického rozkladu

Během jednotlivých experimentů se projevila teplota a intenzita míchání jako velmi významné faktory ovlivňující průběh a reprodukovatelnost měření. Úbytek rozpuštěného kyslíku v kapalně fázi je elektrochemicky generován a doplňován z fáze plynné. Při kontinuálním míchání reakční suspenze je zabezpečen dostatečný přestup kyslíku z plynné do kapalně fáze. Nedostatečné míchání (nízké otáčky) nebo zastavení míchání (bohužel časté, způsobené konstrukcí přístroje) negativně ovlivní transport kyslíku do kapalně fáze a tím i průběh biologické rozložitelnosti organických látek, reprezentované nižšími hodnotami BSK.

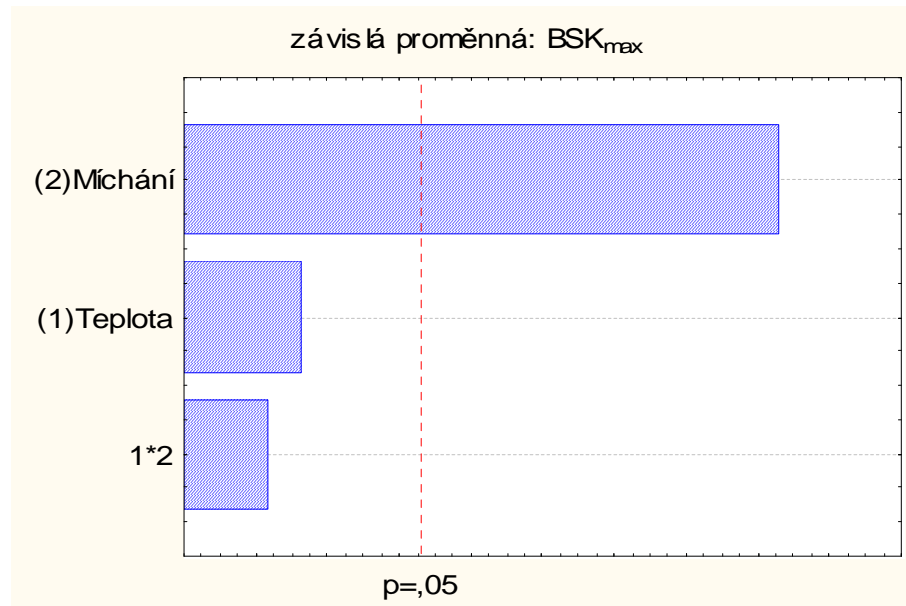
Okolní teplota je rovněž velmi důležitým faktorem ovlivňující tvar biodegradčních závislostí, poněvadž respirometr BI-2000 pracuje na manometrickém principu. Kolísání okolní teploty vede ke kolísání tlaku ve vnější části reakční cely: i mírné ochlazení vede k poklesu tlaku v cele a ke generování kyslíku. Mírné změny teploty laboratoře (řádově stupně C) podstatněji neovlivní rychlost biologického rozkladu testovaných látek, ale projeví se na grafickém znázornění jejího průběhu nevzhlednými „píky“ (str. 63, obr. 35, 36). Podobně

se ale projeví i na průběhu slepých pokusů, takže po jejich odečtení (při výpočtu např. substrátové aktivity) je tento vliv do značné míry eliminován.

Uvedené faktory byly proto analyzovány pomocí vícefaktorové analýzy rozptylu (ANOVA). Byl sledován vliv teploty a míchání na závisle proměnné: maximální hodnotu BSK (BSK_{max}), rychlostní konstantu rozkladu a lagovou fázi rozkladu. Statisticky významné jsou ty faktory, u kterých bude p-hodnota menší než hladina významnosti 0,05. Dále byl zkoumán tzv. efekt interakcí. Ten hraje roli, pokud je efekt jednoho faktoru ovlivněn úrovní ostatních faktorů. Interakci, která zahrnuje dva faktory, se říká dvourozměrná [32].

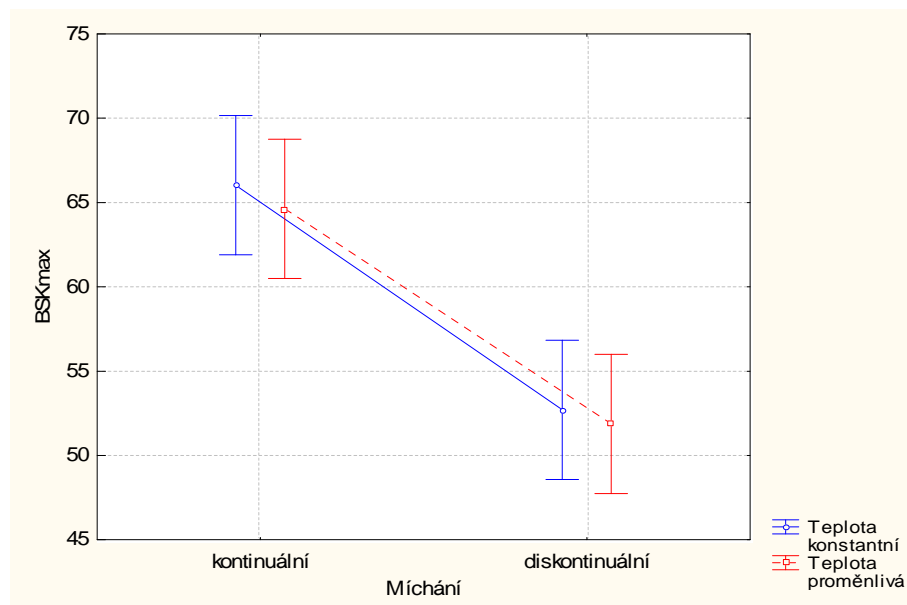
U všech tří závisle proměnných byla graficky znázorněna míra vlivů jednotlivých faktorů (Paretův graf) a interakce teploty s mícháním (Graf marginálních průměrů a mezí spolehlivosti).

Na BSK_{max} mělo vliv pouze míchání (p-hodnota = 0,000085), teplota se neprojevila jako významný faktor (p-hodnota = 0,55). Statisticky významný byl pouze faktor míchání (p-hodnota <0,05), zatímco vliv teploty a interakce (spolupůsobení) faktorů nebyl na hladině významnosti 0,05 prokázán. Tento výsledek potvrzuje i obr. 54, tzv. Paretův graf [32], který umožňuje dobře posoudit míru jednotlivých efektů. Paretův graf (obr. 54) zobrazuje míru efektů teploty, míchání a interakce mezi faktory. Svislá čára představuje minimální velikost efektu, při které tento může být považován za statisticky významný na určité hladině významnosti (v našem případě 5%). Faktor 1*2 označuje dvourozměrnou interakci mezi faktory míchání a teplota. Teplota i interakce mezi oběma faktory se jeví jako nevýznamné faktory, které neovlivňují maximální hodnotu BSK.



Obr. 54. Paretův graf vlivu míchání, teploty a interakce míchání s teplotou na BSK_{max}

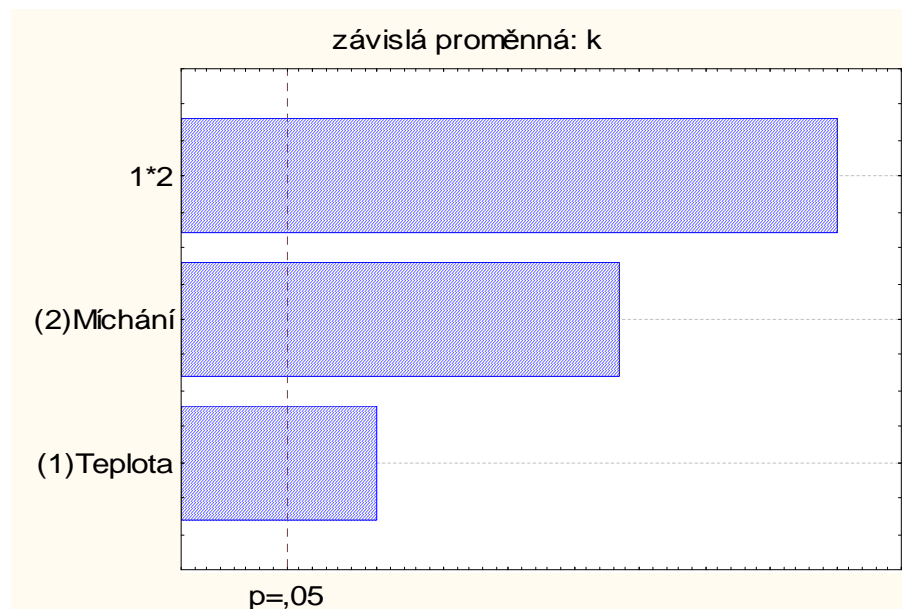
Na obrázku 55 je ukázán efekt interakce faktorů míchání a teploty. Rovnoběžnost obou spojnic průměrů naznačuje, že mezi faktory není žádná interakce, která by ovlivnila BSK_{max} . To je patrné i z obrázku 54, kde dvourozměrná interakce 1*2 není za kritickou hodnotou hladiny významnosti.



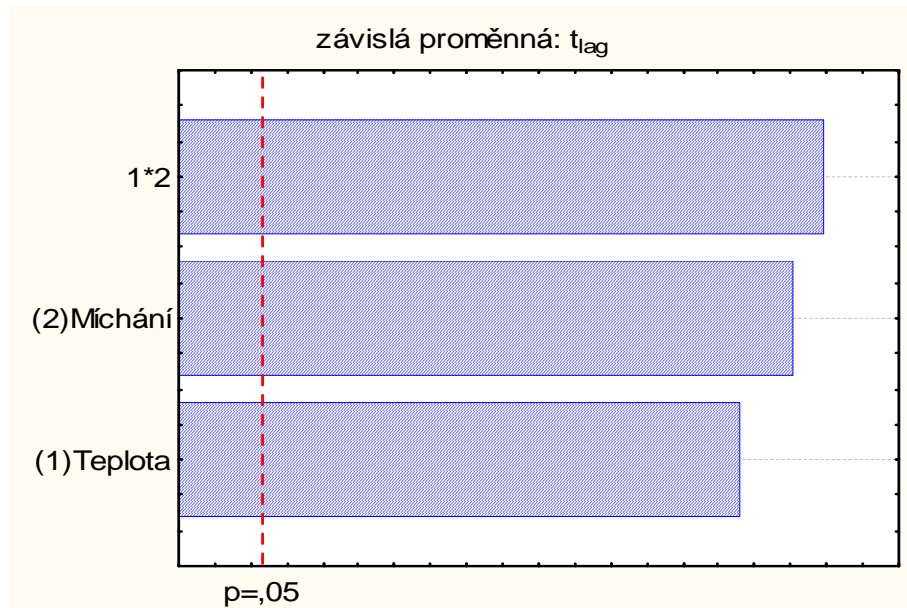
Obr. 55. Graf marginálních průměrů a mezí spolehlivosti pro hodnotu BSK_{max}

Za kontinuální považujeme takové míchání, u kterého během testů nedošlo k žádné poruše. Označení diskontinuální míchání značí výpadek či poruchu míchání reakční směsi během jednotlivých experimentů. Konstantní teplotou je označeno žádné, či jen nepatrné kolísání okolní teploty. U testů s proměnlivou teplotou naopak docházelo ke kolísání teploty až o 10 °C.

Dále byl zkoumán vliv míchání a teploty na rychlostní konstantu k a lagovou fázi. Za významné se opět považují takové faktory, jež překročí hladinu významnosti 0,05. Z obrázku 56 a 57 je patrné, že na rychlostní konstantu i lagovou fázi mělo vliv míchání i teplota. Významná u obou případů byla i interakce mezi oběma faktory. Všechny uvedené faktory překročily hladinu významnosti, tudíž je můžeme považovat za statisticky významné a tím ovlivňující rychlostní konstantu i lagovou fázi.

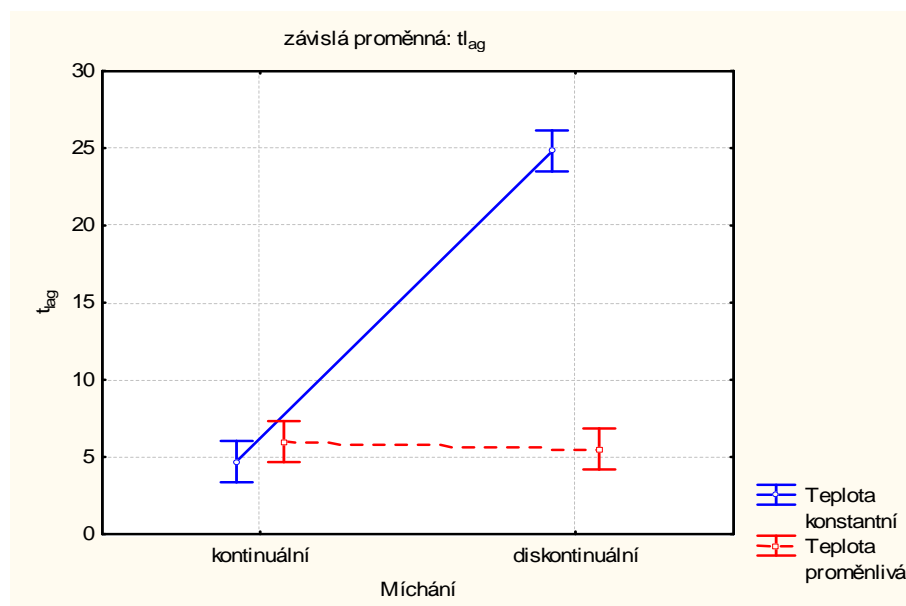


Obr. 56. Paretův graf vlivu míchání, teploty a interakce míchání s teplotou na rychlostní konstantu k

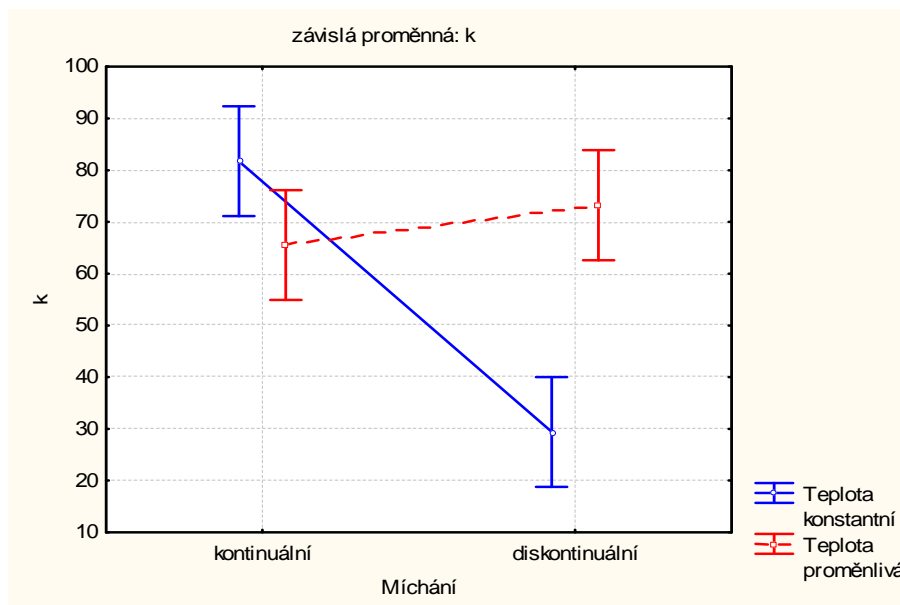


Obr. 57. Paretův graf vlivu míchání, teploty a interakce míchání s teplotou na lagovou fázi t_{lag}

Je patrné, že interakce mezi mícháním a teplotou je v případě rychlostní konstanty a lagové fáze významná. U obou případů byla v Paretově grafu překročena hranice hladiny významnosti 0,05. To potvrzují i obrázky 58 a 59, kde nerovnoběžnost obou spojnic naznačuje jistý stupeň interakce mezi faktory. Tato interakce je statisticky významná.

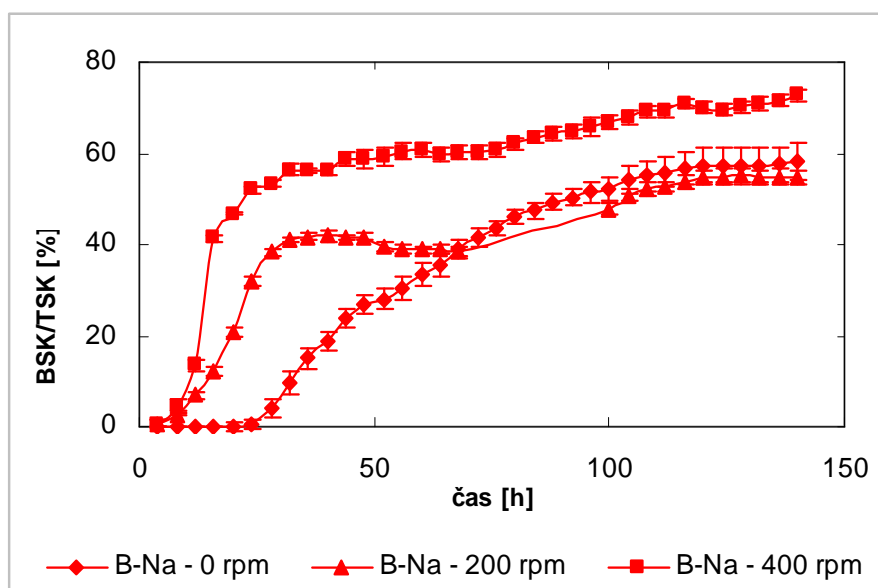


Obr. 58. Graf marginálních průměrů a mezí spolehlivosti pro hodnotu lagové fáze t_{lag}



Obr. 59. Graf marginálních průměrů a mezí spolehlivosti pro hodnotu rychlostní konstanty k

Míchání se projevilo jako velmi významný faktor, proto byl během experimentů sledován vliv různých intenzit míchání na průběh biodegradace modelových látek (str.48, 66, test č. TN_2 a test č. TN_12). Na obrázku 60 je ukázán průběh biologického rozkladu benzoanu sodného při 3 úrovních míchání (0, 200 a 400 rpm). Potvrdilo se předchozí zjištění, že intenzita míchání reakční směsi hraje velmi významnou roli při hodnocení biologické rozložitelnosti organických látek (BSK/TSK).



Obr. 60. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného při 3 úrovních míchání

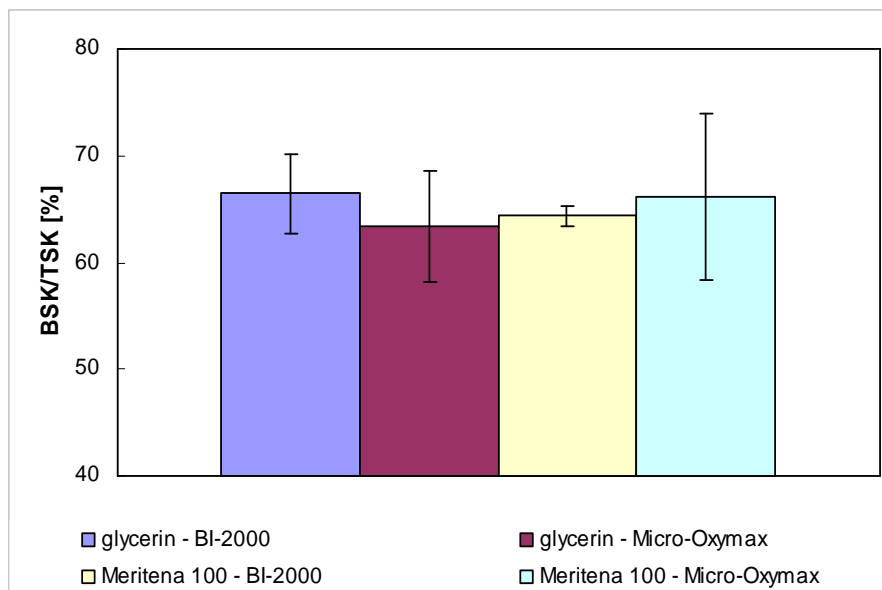
7.6 Biologická rozložitelnost dusíkatých substrátů a nitrifikace

V testu č. TN_9 a TN_11 byl zkoumán vliv nitrifikace na průběh biologické rozložitelnosti dusíkatých látek kaprolaktamu a anilinu. U testu s kaprolaktamem se v cca 50 hodině projevila nitrifikace (str. 61, obr. 34, 35), u testu s anilinem byl průběh biologického rozkladu a nitrifikace nepřesvědčivý a tudíž neprokazatelný (obr. 37, 38).

V normách jsou uváděny dva základní postupy eliminace negativního vlivu nitrifikace na průběh BSK. Jedním je bilance dusíkatých látek a druhým je přidavek inhibitoru nitrifikace. Nitrifikace může být potlačena přidavkem allylthiomočoviny v koncentraci 10 mg/l. Vzhledem k časové tísní a charakteru neznámých reálných vzorků byla pro eliminaci nitrifikace použita inhibice allylthiomočovinou. Allylthiomočovina byla dávkována v testu č. TN_14, kde byl jako substrát použit reálný vzorek Moraprim. Během testu s těmito reálnými vzorky byla preventivně přidána allylthiomočovina. Průběh nitrifikace se v biodegradčních závislostech neprojevil (str. 71, obr. 45., 46.).

7.7 Respirometr BI-2000 vs. Respirometr Micro-Oxymax

K porovnání naměřených dat v respirometru BI-2000 a Micro-Oxymax byly provedeny testy, ve kterých byly jako modelové látky dávkovány glycerin a přírodní škrob Meritena v koncentracích 200 mg/l. Z naměřených dat můžeme usuzovat, že oba respirometry poskytují velmi podobné výsledky (obr. 61). Vypočtené kritérium BSK/TSK jednotlivých substrátů se od sebe liší jen v malém procentu.



Obr. 61. Hodnoty BSK/TSK glycerinu a meriteny 100 v respirometru BI-2000 a Micro-Oxymax

7.8 Metodický pokyn pro sledování biodegradace organických látek v respirometru BI-2000

Předmětem diplomové práce mělo být ověření (validace/verifikace) respirometru BI-2000. Jelikož se během jednotlivých experimentů objevovaly stále nové faktory hlavně technického charakteru, které musely být prozkoumány a zhodnoceny, stal se cílem práce především návrh metodického pokynu - postupu pro sledování biodegradace organických látek v respirometru BI-2000.

7.8.1 Předmět metodického pokynu [3]

Tento pokyn specifikuje sledování biologické rozložitelnosti organických látek aerobními mikroorganismy stanovením biochemické spotřeby kyslíku v respirometru BI-2000.

Metoda je aplikovatelná pro organické látky, které jsou:

- ve vodě rozpustné
- málo či ve vodě nerozpustné

Stanovení BSK v uzavřeném respirometru není vhodné pro reakční směsi, které nemohou být míchány nebo jen omezeně. Naopak je vhodné pro mikrobiologické testy v případě zajištění intenzivního míchání (400 rpm).

7.8.2 Podstata zkoušky [3]

Organická látka je jediným zdrojem organického uhlíku a energie v minerálním médiu. Koncentrace zkoušené látky by se měla pohybovat od 100 mg/l do 200 mg/l.

Reakční směs (minerální médium, substrát a aktivovaný kal) je míchána v reaktoru, spotřeba kyslíku mikroorganismy je stanovena manometrickým způsobem měření. Vznikající CO₂ je absorbován hydroxidem draselným v absorpční zkumavce. Spotřeba kyslíku (BSK) korigovaná spotřebou kyslíku souběžně prováděného slepého stanovení je vyjádřena v mg O₂/g (BSKs), nebo v procentech (BSKs/TSK, případně Beka/CHSK). Kromě toho může být stupeň biodegradace vypočítán z výsledků např. TOC u látek ve vodě dobře rozpustných z hodnot TOC na začátku a na konci daného měření. Na základě těchto údajů se hodnotí biologická rozložitelnost zkoušené látky.

7.8.3 Zkušební podmínky [3]

Biologický rozklad organické látky by měl probíhat v prostředí s konstantní teplotou a při kontinuálním intenzivním míchání – 400 rpm.

7.8.4 Chemikálie [3]

- Minerální médium (složení + příprava viz. kap. 5.1)
- Absorbér oxidu uhličitého: pevný hydroxid draselný
- Elektrolyt: 1 N kyselina sírová

7.8.5 Postup zkoušky [3]

7.8.5.1 Příprava roztoků zkoušených látek

Připravíme zásobní roztok zkoušené látky v minerálním médiu v koncentraci např. 2,5 g/l. Do reakčních nádob, ve kterých je známý objem minerálního média, odměříme příslušný objem zásobního roztoku tak, aby výsledná koncentrace zkoušené látky v reakční nádobě byla 200 mg/l (tato koncentrace byla stanovena experimentálně).

7.8.5.2 Příprava inokula

Z laboratorního modelu odebereme určitý objem aktivovaného kalu. Kal odstředíme a následně rozmícháme v určitém objemu minerálního média. Takto připravený zásobní kal

(o objemu např. 1 litr) dávkujeme do reakčních nádob v objemu, aby koncentrace sušiny kalu v reaktoru byla 200 mg/l (stanoveno experimentálně).

7.8.5.3 Zkouška

Před zahájením experimentu uvedeme respirometr BI-2000 do chodu (spínač na zadní straně modulů) a zapneme temperaci vodní lázně.

Připravíme reakční nádoby, do kterých nadávkuje minerální médium a připravené zásobní roztoky tak, aby celkový objem reakční suspenze v reaktoru činil 500 ml. Souběžně připravíme modelové suspenze (slepé stanovení a suspenze se zkoušenou látkou), u kterých změříme pH a stanovíme TOC. Do reaktorů vložíme míchadla a reaktory umístíme do vodní lázně. Do absorpční zkumavky přidáme hydroxid draselný, do elektrolytických cel nadávkuje elektrolyt (cca 40 ml na 1 celu) tak, že hladina elektrolytu bude pod spínací elektrodou. Jednotlivé části reaktoru na sebe napojíme a utěsníme pomocí speciálního tuku na zábrusy (Lubriscal-petroleum grease base). Po propojení reaktorů k přednímu panelu reakčního modulu pomocí spojovacích kabelů nastavíme v softwaru jednotlivé údaje (číslo testu, objem reakční suspenze, dobu vzorkování atd.). Provedeme test těsnosti (probíhá bez míchání reakční suspenze). Při testu těsnosti je hladina elektrolytu těsně pod spínací elektrodou, proto dojde při spuštění testu k aktivaci cely a tím i ke generaci kyslíku. Proces skončí, jakmile se hladina elektrolytu dotkne spínací elektrody. Pokud se hladina elektrolytu udrží a nepoklesne během cca 5 minut opět pod spínací elektrodu, je test těsnosti hotov. Poté doplníme elektrolyt (několik mm nad spínací elektrodu), spustíme míchání reakční suspenze a necháme běžet daný experiment. Během průběhu daného experimentu musíme doplňovat hladinu vody v temperační lázni a kontrolovat, zda nedošlo k vyčerpání elektrolytu či jiné závadě. V takovém případě lze jednotlivý reaktor stopnout nezávisle na ostatních reakčních nádobách.

Po ukončení pokusu zkontrolujeme pH suspenze a stanovíme TOC.

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo navrhnout a vypracovat metodický pokyn pro sledování biologické rozložitelnosti organických látek v respirometru BI-2000.

Jelikož byl respirometr BI-2000 na ústavu inženýrství životního prostředí nový, musely být stanoveny podmínky, které by byly optimální pro práci s respirometrem BI-2000.

Pro testování byly použity standardní látky: benzoan sodný, glycerin, přírodní škrob meritena 100, kaprolaktam a anilin.

Jako kritický faktor se hned v počátku jeví míchání reakční suspenze, které má významný vliv na průběh biologické rozložitelnosti i na maximální hodnoty biochemické spotřeby kyslíku. Dalším faktorem, který ovlivňoval hlavně průběh rozložitelnosti, byla okolní teplota. Tyto dva faktory jsou pro práci s respirometrem BI-2000 stěžejní a doporučení je pracovat při co nejmenším kolísání okolní teploty (nejlépe v temperované místnosti) a za kontinuálním mícháním.

Jelikož míchání významně ovlivňuje průběh biologické rozložitelnosti, jeví se respirometr BI-2000 nevhodným pro testy v půdním prostředí. Složitost celé aparatury nedovoluje ani protřepání reakční směsi, tudíž by byly naměřené výsledky zkresleny. Naopak je respirometr BI-2000 vhodný pro mikrobiologické testy ve vodním prostředí, mimo jiné i důvodu snadné sterilizace skleněných reaktorů.

Dále byla v experimentech posuzována optimální koncentrace substrátu a sušiny. Pro experimenty se jako vyhovující jeví koncentrace substrátu 200 mg/l a koncentrace sušiny kalu také 200 mg/l. Při nižší koncentraci substrátu (100 mg/l) nebyly průběhy biologické rozložitelnosti modelové látky benzoanu sodného dostatečně odlišné od endogenní respirace.

V neposlední řadě byly porovnány výsledky získané z respirometru BI-2000 a respirometru Micro-Oxymax. Podle získaných výsledků je možné usuzovat, že oba respirometry poskytují velmi podobné výsledky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PITTER, P. Biodegradability of organic substance in the aquatic environment, 1990. ISBN 0-8493-5131-6
- [2] ČSN EN ISO 7827: Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí: Metoda stanovení rozpuštěného organického uhlíku
- [3] ČSN EN 29408: Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí: Metoda stanovení spotřebou kyslíku v respirometru
- [4] ČSN EN 29439: Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí: Metoda stanovení uvolněného oxidu uhličitého
- [5] BARTOVSKÝ, T., Analyzátory emisí, Praha 1994
- [6] HOFFMANN, J., ŘEZNIČKOVÁ, I., RŮŽIČKA, J. Technologická cvičení z Ochrany prostředí, část II. Zlín: Vysoké učení technické v Brně, 2000. ISBN 80-214-1709-9
- [7] HOFMAN, Jakub: Měření aktivit mikroorganismů [online]. [cit. 2008-01-13]. Dostupný z WWW: <http://recetox.muni.cz/sources/prednasky/hofman/03_ekotox2.pdf>.
- [8] Respirometry Plus: The Artur Bench Respirometer [online]. [cit. 2008-01-20]. Dostupný z WWW: <http://www.respirometryplus.com/arthur_bench.htm>.
- [9] KUČEROVÁ Ludmila: Vlastní kontrolní měření BSK [online]. [cit. 2008-01-18]. Dostupný z WWW: <<http://www.sweb.cz/wtwkucerova/bskprislus.html>>.
- [10] WTW: BOD measurements Respiration [online]. [cit. 2008-01-18]. Dostupný z WWW: <http://www.wtw.com/media/US_L_09_BSB_062_079.pdf>.
- [11] U. Strotmann a kol.: Development and Evaluation of an Online CO₂ Evolution Test and a Multicomponent Biodegradation Test System. Applied and Environmental Microbiology. 2004. Vol. 70, Iss. 8, p. 4621-4628
- [12] H+P Labortechnik AG: Sapromat® [online]. [cit. 2008-01-20]. Dostupný z WWW: <http://www.precilabo.com.br/central/autoclaves_bloco_agitadores/Sapromat/SAPROMAT.pdf>.

- [13] S. G. Hales a kol.: A respirometer with improved sensitivity for ready biodegradation testing. *Chemosphere*. Great Britain 1996. Vol. 33, Iss. 7, p. 1247-1259
- [14] Columbus Instruments: Respirometer: Micro-Oxymax [online]. [cit. 2008-01-13]. Dostupný z WWW: <<http://www.colinst.com/brief.php?id=45>>.
- [15] Bio-Respiration News from Columbus Instruments. Vol. 5, Iss. 1, 1994
- [16] LOZZI, Paolo: Analytické přístroje firmy Costech. *Biom.cz* [online]. [cit. 2008-01-12]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/index.shtml?x=149143>>.
- [17] A. Krist Gernaey a kol.: Activated sludge monitoring with combined respirometric-titrimetric measurements. *Water Research*. Great Britain 2001. Vol. 35, Iss. 5, p. 1280-1294
- [18] Z. Yuan, H. Bogaert: A titrimetric respirometer measuring the nitrifiable nitrogen in wastewater using insensor-experiment. *Water Research*. Great Britain 2001. Vol. 35, Iss. 1, p. 180-188
- [19] S. Marsili-Libelli, F. Tabani: Accuracy analysis of a respirometer for activated sludge dynamic modelling. *Water Research*. Italy 2002. Vol. 36, Iss. 5, p. 1181-1192
- [20] Bioscience, Inc.: BI-2000 Electrolytic Respirometer User's Reference Manual and Troubleshooting Guide. 2001
- [21] SUCHÁNEK, M., a kol. *Kvalimetrie*, Praha 1999. ISBN 80-901868-4-X
- [22] BADAL, M., a kol. *Kvalimetrie*, Praha 2000. ISBN 80-901868-8-2
- [23] Validační program pro statistické zpracování analytických dat [online]. [cit. 2008-01-20]. Dostupný z WWW: <<http://sweb.cz/HPLC/Suma/Validace.htm>>.
- [24] DRUŽBÍK M.: Automatizovaný postup sledování biologického rozkladu polymerů (aplikace mikrorespirometru), Diplomová práce, UTB Zlín, 2006
- [25] N.S. Battersby: A review of biodegradation kinetics in the aquatic environment. *Chemosphere* 1990. Vol. 21, p.1243-1284
- [26] R.J. Larson, R.L. Perry: Use of the electrolytic respirometer to measure biodegradation in natural waters. *Water Research*. 1981. Vol. 15, p. 697-702

- [27] R.J. Larson: Estimation of biodegradation potential of xenobiotic organic chemicals. *Appl Environ Microbiol* 1979. Vol. 38, p. 1153-1161
- [28] P.T. Srinivasan, T. Viraraghavan: An analysis of the “Modified Sturm test“ data. *Chemosphere*. 2000. Vol. 40, p. 99-102
- [29] R.J. Larson a kol.: Karbon dioxide recovery in ready biodegradation tests: mass transfer and kinetic considerations. *Chemosphere* 1996. Vol. 33, p. 1195-1210
- [30] Základní kurz statistiky s programem STATISTICA 6.1, 2003
- [31] KLÍMEK, P., STRŽÍŽ, P., KASAL, R. Počítačové zpracování dat v programu statistica, Analýza rozptylu a neparametrické testy, 2. díl. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. ISBN 80-7318-379-X
- [32] Manuál: STATISTICA, plánování experimentů, 2005

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

TOC	Veškerý organický uhlík [mg.l^{-1}]
DOC	Rozpuštěný organický uhlík
CHSK	Chemická spotřeba kyslíku [mg.g^{-1}]
PVC	Polyvinylchlorid
BSK	Biochemická spotřeba kyslíku [mg.l^{-1}]
BSKs	Substrátová biochemická spotřeba kyslíku [mg.g^{-1}]
CES	Co-ordinated Environmental Services
UIOŽP	Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
GC	Plynová chromatografie
BI	Bioscience, Inc.
p.a	Pro analýzu
Sl.p.	Slepý pokus
B-Na	Benzoan sodný
Glyc.	Glycerin
Mer.	Meritena 100
Kap.	Kaprolaktam
Anil.	Anilin
Sušina _{poč.}	Sušina inokula na začátku měření [g.l^{-1}]
Sušina _{kon.}	Sušina inokula na konci měření [g.l^{-1}]
TSK	Teoretická spotřeba kyslíku [mg.g^{-1}]
t_{lag}	Lagová fáze [h]
TOC _{poč.}	Veškerý organický uhlík na začátku měření [mg.l^{-1}]
TOC _{kon.}	Veškerý organický uhlík na konci měření [mg.l^{-1}]
D _{TOC}	Procento odstranění substrátu podle úbytku organického uhlíku [%]

BSK _{max}	Maximální hodnota biochemické spotřeby kyslíku [mg.g ⁻¹]
rpm	Rotate per minute (otáčky za minutu)
p.	Pozice reakční nádoby
BM	Pozice bez míchání reakční směsi
p-hodnota	Hodnota hladiny významnosti
BSKc	Celková biochemická spotřeba kyslíku [mg.l ⁻¹]
k	Rychlostní konstanta

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr. 1. Schéma měřicí jednotky přístroje BIAL BOD 10
- Obr. 2. Schéma Wartburgova respirometru
- Obr. 3. Schéma Arthur Bench respirometru
- Obr. 4. Oxitop Control B6/BM6 a Oxitop Control AN6/AN 12
- Obr. 5. Schéma zařízení pro měření vývoje oxidu uhličitého a vícesložkového systému pro testování biodegradace
- Obr. 6. Schéma měřicí jednotky respirometru Sapromat E
- Obr. 7. Schéma CES respirometru
- Obr. 8. Schéma respirometru Micro-Oxymax v aerobním režimu
- Obr. 9. Schéma respirometru pro aktivovaný kal firmy Columbus Instruments
- Obr. 10. Schéma adiabatického dynamického respirometru
- Obr. 11. Schéma smíšeného respirometru podle A. Krist Gernaey
- Obr. 12. Schéma respirometru podle Z. Yuan
- Obr. 13. Schéma uzavřeného respirometru podle S. Marsili-Libelli
- Obr. 14. Systém s možnou acidimetrickou i GC koncovkou
- Obr. 15. Anaerobní verze systému
- Obr. 16. Laboratorní aparatura pro sledování biologické rozložitelnosti
- Obr. 17. Reaktor tvořený z reakční nádoby, elektrolytické cely a absorpční zkumavky
- Obr. 18. Součásti elektrolytické cely
- Obr. 19. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného o koncentraci **100 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 20. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 21. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného za přítomnosti aktivovaného kalu – bez míchání **0 rpm**

- Obr. 22. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného za přítomnosti aktivovaného kalu – s mícháním **400 rpm**
- Obr. 23. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného ve **standardním** minerálním médiu za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 24. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného v **dusičnanovém** minerálním médiu za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 25. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 26. Průběh biologického rozkladu **glycerinu** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 27. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentracích sušiny **30-200 mg/l**
- Obr. 28. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentracích sušiny **200-500 mg/l**
- Obr. 29. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 30. Průběh biologického rozkladu **glycerinu** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 31. Průběh biologického rozkladu škrobu Meritena 100 za přítomnosti aktivovaného kalu – **modul 1**
- Obr. 32. Průběh biologického rozkladu škrobu Meritena 100 za přítomnosti aktivovaného kalu – **modul 2**
- Obr. 33. Průběh biologického rozkladu kaprolaktamu o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 34. Průběh biologického rozkladu kaprolaktamu o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 35. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného a Meriteny 100** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 36. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného a Meriteny 100** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 37. Průběh biologického rozkladu anilinu o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 38. Průběh biologického rozkladu anilinu o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu

- Obr. 39. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného za přítomnosti aktivovaného kalu - s mícháním **400 rpm**
- Obr. 40. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného za přítomnosti aktivovaného kalu - s mícháním **200 rpm**
- Obr. 41. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentracích sušiny **30-200 mg/l**
- Obr. 42. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentracích sušiny **250-500 mg/l**
- Obr. 43. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného a reálného vzorku** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 44. Průběh biologického rozkladu **benzoanu sodného a reálného vzorku** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 45. Průběh biologického rozkladu substrátů o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 46. Průběh biologického rozkladu substrátů o koncentraci **200 mg/l** za přítomnosti aktivovaného kalu
- Obr. 47. Kinetika prvního řádu
- Obr. 48. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného s chybovým hlášením nereálných hodnot BSK
- Obr. 49. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného před a po recalibraci měřicího rozsahu tlakových senzorů
- Obr. 50. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného v jednotlivých reakčních modulech
- Obr. 51. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného o dvou různých koncentracích
- Obr. 52. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentraci sušiny 30-500 mg/l
- Obr. 53. Průběh respirace aktivovaného kalu o koncentraci sušiny 30-500 mg/l
- Obr. 54. Paterův graf
- Obr. 55. Graf marginálních průměrů a mezí spolehlivosti
- Obr. 56. Paterův graf
- Obr. 57. Paterův graf
- Obr. 58. Graf marginálních průměrů a mezí spolehlivosti
- Obr. 59. Graf marginálních průměrů a mezí spolehlivosti

Obr. 60. Průběh biologického rozkladu benzoanu sodného při 3 úrovních míchání

Obr. 61. Maximální hodnoty BSK glycerinu a meriteny 100 v respirometru BI-2000 a Micro-Oxymax

SEZNAM TABULEK

- Tab. 1. Vstupní charakteristika testovaných vzorků
- Tab. 2. Sledované parametry testu č. TN_1 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 3. Sledované parametry testu č. TN_2 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 4. Sledované parametry testu č. TN_3 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 5. Sledované parametry testu č. TN_5 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 6. Sledované parametry testu č. TN_6 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 7. Sledované parametry testu č. TN_7 pro modul 1 (B-Na) a modul 2 (glycerin)
- Tab. 8. Sledované parametry testu č. TN_8 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 9. Sledované parametry testu č. TN_9 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 10. Sledované parametry testu č. TN_10 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 11. Sledované parametry testu č. TN_11 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 12. Sledované parametry testu č. TN_12 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 13. Sledované parametry testu č. TN_13 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 14. Sledované parametry testu č. TN_14 pro modul 1 a modul 2
- Tab. 15. Sledované parametry testu COLUMBUS_TN_1